

Verschieden strukturierte Polyamide als stationäre Phasen in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie

Den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
zur Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Udo Knecht
aus Hallenberg

Verschieden strukturierte Polyamide als stationäre Phasen in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie

Den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
zur Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Udo Knecht
aus Hallenberg

Als Dissertation genehmigt von den
Naturwissenschaftlichen Fachbereichen der Universität
Erlangen-Nürnberg



Tag der mündlichen Prüfung: 1. August 1975

Vorsitzender der

Promotionskommission : Universitätsprofessor Dr. H. Behrens

1. Berichterstatter : Universitätsprofessor Dr. G. Hesse

2. Berichterstatter : Universitätsprofessor Dr. H. Hofmann

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Februar 1972 bis Mai 1975 am Institut für Organische Chemie I der Universität Erlangen-Nürnberg.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. G. Hesse, danke ich besonders für die Überlassung des Themas und immer bereite Aufgeschlossenheit für jede Fragestellung bei der Durchführung dieser Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Allgemeiner Teil	2
1.1.1. Parameter der Chromatographie	2
1.2. Themenstellung	11
2. Hauptteil	12
2.1. Theoretische Feststellungen über den chemischen Aufbau der Polyamide	12
2.2. Chromatographie an Polyamiden	15
3. Experimenteller Teil	17
3.2. Apparatur	21
3.3. Detektion	22
3.4. Kolonnenpräparation	23
4. Chromatographische Meßergebnisse	25
4.1. Mobile Phase: n-Hexan/Methanol (1 %)	25
4.1.1. Stationäre Phase: Polyamid-2 (Poly- γ -methyl-L- glutamat)	25
4.1.2. Stationäre Phase: Polyamid-3 (Poly-4-methyl- azetidinon-2)	32
4.1.3. Stationäre Phase: Polyamid-6	38
4.1.4. Stationäre Phase: Polyamid-12	44
4.2. Diskussion der Ergebnisse	50
4.3. Mobile Phase: n-Hexan/Essigsäure (1 %)	62

4.3.1.	Stationäre Phase: Polyamid-2 (Poly- γ -methyl-L-glutamat)	62
4.3.2.	Stationäre Phase: Polyamid-3 (Poly-4-methylazetidinon-2)	66
4.3.3.	Stationäre Phase: Polyamid-6	69
4.3.4.	Stationäre Phase: Polyamid-12	74
4.4.	Diskussion der Ergebnisse	77
4.5.	Polyamid-12 als stationäre Phase in der "Reversed-Phase" -Chromatographie	84
4.5.1.	Mobile Phase: Wasser	85
4.5.2.	Mobile Phase: Wasser/Dioxan (5 %)	87
4.5.3.	Mobile Phase: Wasser/Acetonitril (10 %)	89
4.5.4.	Mobile Phase: Wasser/Dioxan (12,5 %)	91
4.5.5.	Mobile Phase: Wasser/Dioxan (25 %)	93
4.6.	Diskussion der Ergebnisse	97
5.	Symbolverzeichnis	99
6.	Literaturverzeichnis	100

ooOoo

ZUSAMMENFASSUNG

Verschieden strukturierte Polyamide wurden auf ihre Eignung für die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie untersucht.

Zur Anwendung kamen Poly- γ -methyl-L-glutamat, ein Polyamid-2; Poly-4-methyl-azetidinon-2, ein Polymeres mit Polyamid-3-Gerüst; Polyamid-6 und Polyamid-12.

Polyamide können wegen ihrer physikalisch-chemischen Instabilität (Kompressibilität unter hohem Druck, Quellbarkeit durch einige organische Lösungsmittel) nicht direkt als stationäre Phasen Verwendung finden, sondern wurden auf druckstabile Träger aufgebracht.

Hier konnte in einem Versuch zur Aktivitätsbestimmung gezeigt werden, daß es sich dabei um eine Primäradsorption des Polyamids zum Trägermaterial, in unserem Fall Kieselgel, handelt; nach Belegung mit dem Polyamid verlief die Prüfung mit Triphenylchlormethan auf die Aktivität des Kieselgel / Polyamid - Trägers negativ.

Polyamid kann generell in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie als stationäre Phase eingesetzt werden für Verbindungen, die hieran über Wasserstoffbrücken gebunden werden.

Der wichtigste Parameter bei der Polyamidchromatographie ist die Wahl der mobilen Phase. In unseren Versuchsreihen wurde n-Hexan, das jeweils mit 1 Vol.-% Methanol bzw. Essigsäure versetzt war, verwendet. Durch Variation dieses polaren Anteils in der mobilen Phase können die Retentionszeiten beliebig verändert bzw. Trennleistungen verbessert werden. Allgemein werden mit n-Hexan / Methanol an allen Polyamiden kleinere k' -Werte erhalten, als mit n-Hexan / Essigsäure; dies deutet offensichtlich auf ein Konkurrenzphänomen des polaren Anteils in der mobilen Phase mit den zu chromatographierenden Substanzen um die Bindung zum Polyamid hin.

Die starke Selektivität der einzelnen Polyamide zu den Probemolekülen kommt in den k' -Werten zum Ausdruck; so steigen sie z.B. bei der Chromatographie der Anilinderivate vom Polyamid-2 zum Polyamid-6 an, umgekehrt verkürzen sich beispielsweise die Analysenzeiten der Phenole beim Übergang vom Polyamid-2 zum Polyamid-6.

Die wesentlich kürzeren Retentionszeiten, die am Polyamid-12 im Vergleich zum Polyamid-6 auftraten, fanden eine Erklärung in der Konzentration der Carbonamidgruppen, die die aktiven Zentren bei der Polyamidchromatographie darstellen. Im Polyamid-6 haben wir die doppelte Konzentration im Vergleich zum Polyamid-12. Dies ließ sich anhand eines Versuchs zeigen, bei dem wir an einer Säule mit Polyamid-12 als Trägermaterial chromatographierten, die doppelt so lang war, wie eine, die mit Polyamid-6 als stationärer Phase gefüllt war. Die resultierenden k' -Werte waren fast gleich.

Bei unseren Untersuchungen nahm Polyamid-12 eine Sonderstellung ein. An dieser stationären Phase konnten Trennungen erzielt werden, deren Mechanismus einmal auf Wasserstoffbrückenbindungen beruht, zum anderen konnte hier bei Variation der mobilen organischen Phase zu einer wäßrig/organischen Phase erfolgreich die Phaseninversions-Chromatographie angewendet werden, deren Mechanismus diskutiert wird. Für diesen Elutionsprozeß wäre eine Gradient-Elution zur Optimierung der Trennung angebracht. Wie schon dünn-schichtchromatographisch gezeigt werden konnte ⁴⁸⁾, hatten auch in der HPLC Unterschiede in der Kettenlänge ein und desselben Polyamids keinen Einfluß auf die Trennergebnisse.

1. Einleitung

Die Flüssigkeitschromatographie in Säulen wurde bereits zu Beginn dieses Jahrhunderts vorgeschlagen ¹⁾, fand jedoch zunächst keine breite Anwendung in den analytisch-chemischen Laboratorien. Viel zu lange Analysenzeiten und das Fehlen hochempfindlicher Detektoren verhinderten eine stärkere Verbreitung dieser Trennmethode. Erst die Entwicklung der chromatographischen Theorie und der Zwang zur Rationalisierung in der Analytik ließen die Flüssigchromatographie zur Anwendung kommen. Die Forschung und Entwicklung der letzten Jahre hat nun gezeigt, daß die Flüssigchromatographie sowohl ausgezeichnete Trennleistungen als auch kurze Analysenzeiten aufweisen kann ²⁻⁹⁾. Inzwischen kennt man eine große Anzahl z.T. automatisierter chrom. Techniken. Ihre physikalische Grundlage ist in jedem Fall ein Sorptionsgleichgewicht der Probesubstanz zwischen einer flüssigen mobilen und einer flüssigen oder festen stationären Phase. Der Begriff Sorption ist dabei weit zu fassen, als Grenzfälle können z.B. Adsorption, Verteilung oder Ionenaustausch vorliegen, doch sind wahrscheinlich mehrere Mechanismen gleichzeitig möglich.

Bei der klassischen Säulenchromatographie, einer Adsorptionstechnik, werden Säulen vom Innendurchmesser 1-3 cm verwendet. Sie sind gefüllt mit Teilchen in einer Größenordnung von 0,1 - 0,15 mm. Das Verhältnis von Säulen- zu Teilchendurchmesser ist mindestens gleich 10 (sog. klassische oder regulär gepackte Säulen). Die Strömung der mobilen Phase durch die Säule beruht im einfachsten Fall auf der Schwerkraft und beträgt etwa 10 ml/h, weshalb eine Trennung oft Stunden oder Tage dauern kann.

Erst in den letzten Jahren war man bestrebt, die Flüssigchromatographie

so zu beschleunigen, daß sie in bezug auf Analysenzeiten mit der Gaschromatographie konkurrieren kann.

Bei der neuen Technik verwendet man dünnere Trennsäulen (1-3 mm innerer Durchmesser) und Teilchengrößen unter 0,05 mm. Da Flüssigkeiten etwa hundertmal viskoser als Gase sind, wird die Elution, um vergleichbare Geschwindigkeiten zu erzielen, durch einen hohen Eingangsdruck (einige zehn oder hundert Atmosphären), der im allgemeinen mit einem Pumpensystem erzeugt wird, beschleunigt. So ist es möglich, Strömungsgeschwindigkeiten von 1-5 cm/sec zu erhalten und die Analysenzeiten in günstigen Fällen auf Minuten zu vermindern.

1.1. Allgemeiner Teil

1.1.1. Parameter der Chromatographie

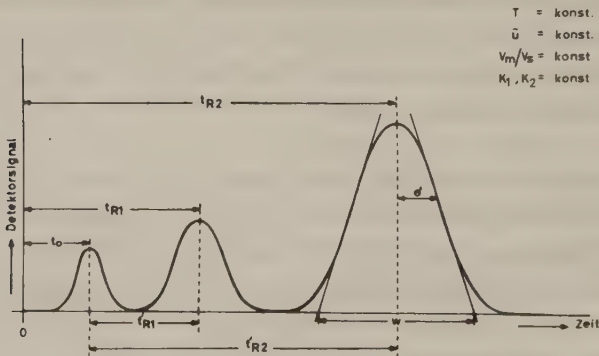


Abb. 1

Lineare Geschwindigkeit: Die lineare Strömungsgeschwindigkeit der bewegten Phase in der Kolonne wird nach folgender Gleichung bestimmt:

$$u = \frac{L}{t_o} \quad (1)$$

(Die verwendeten Symbole sind am Ende der Arbeit zusammengestellt).

Vorteilhaft ist die Verwendung der zeitgemittelten Geschwindigkeit, weil:

- 1) sie einfach aus der Durchbruchzeit des Inertpeaks t_o errechenbar ist;
- 2) in diesem Falle die Retentionszeit umgekehrt proportional mit u ist.

Retentionszeit und Kapazitätsverhältnis oder Massenverteilungsverhältnis k'

Durch die unterschiedliche Sorption an der stationären Phase erreichen die Probemoleküle das Säulenende zu verschiedenen Zeiten und gelangen in den Detektor, der die Reihenfolge ihrer Elution mittels eines Chromatogrammes anzeigt.

Aus diesem entnimmt man die wichtigsten Kenngrößen der Retention. Es sind dies:

1. Retentionszeit t_R
2. Retentionsvolumen V_R
3. Massenverteilungskoeffizient k'

Retentionszeit:

Die Retentionszeit t_R ist die Summe aus der Zeit, in der sich die Probe in der mobilen Phase befindet, die auch als Totzeit t_o bezeichnet wird, und der Aufenthaltszeit der Probe in der stationären Phase t'_R .

$$t_R = t_o + t'_R \quad (2)$$

t'_R wird Nettoretentionszeit genannt und entspricht der Aufenthaltsdauer der Teilchen im sorbierten Zustand.

Die Retentionszeiten sind abhängig von den Strömungsgeschwindigkeiten der mobilen Phase und deshalb für Vergleiche ungünstig. Man verwendet besser das Retentionsvolumen, welches angibt, wieviel Milliliter mobile Phase durch die Säule strömen, bis das Maximum des Konzentrationsprofils eluiert ist. Es ist das Produkt aus Volumengeschwindigkeit und Retentionszeit.

$$V_R = t_R \cdot F \quad (3)$$

Die Volumengeschwindigkeit F ist der linearen Geschwindigkeit u der mobilen Phase proportional. Der Proportionalitätsfaktor ist der Querschnitt q der Trennsäule.

$$F = q \cdot u \quad (4)$$

Retentionsvolumen:

Aus der Totzeit t_0 , die sich leicht mit einer Substanz bestimmen läßt, die im System nicht zurückgehalten wird, läßt sich das Totvolumen V_M der Säule (= Volumen der mobilen Phase in der Säule) und der Apparatur zwischen Probeaufgabe und Detektor bestimmen, wobei unter gewissen Umständen das apparative Totvolumen vernachlässigt werden kann. Totvolumina außerhalb der Trennsäule, vor allem zwischen Säule und Detektor, sind, da sie die Retentionsdaten verfälschen und die Trennleistungen des Systems verschlechtern, unerwünscht. Ihr Einfluß wurde von Halász und Mitarbeitern ausführlich untersucht^{10, 11, 12, 13}. Das Totvolumen der Säule hängt von der Packung, dem Packungsmaterial und von konstruktiven Merkmalen der Trennsäulen ab. Es hat keinen Einfluß auf die Trennung. Das Nettoretentionsvolumen V_N ist definitionsgemäß das um das Totvolumen verminderte Gesamtretentionsvolumen.

$$V_N = V_R - V_M \quad (5)$$

Zwischen Nettoretentionsvolumen und dem Verteilungskoeffizienten k

besteht ein direkter Zusammenhang ^{14, 15)};

$$V_N = k \cdot V_S \quad (6)$$

wobei V_S das Volumen der stationären Phase darstellt.

Massenverteilungskoeffizient:

Ein wichtiger Parameter, der einfach aus dem Chromatogramm zu bestimmen ist und dem Verteilungskoeffizienten proportional ist, wird als Kapazitätsverhältnis oder Massenverteilungsverhältnis k' bezeichnet.

Die dimensionslose Größe k' stellt das Bindeglied zwischen dem thermodynamischen Verteilungskoeffizienten k und dem Retentionsvolumen dar.

$$k' = k \cdot \frac{V_S}{V_M} \quad (7)$$

Der k' -Wert gibt das Mengenverhältnis der Substanzverteilung zwischen der stationären Phase und der mobilen Phase wieder.

Aus Gleichung 6, 7 und 8 folgt:

$$V_R = V_M (1 + k') \quad (8)$$

Bei konstanter Strömungsgeschwindigkeit kann man an Stelle des Retentionsvolumens auch die Retentionszeit verwenden, die man direkt aus dem Chromatogramm entnehmen kann.

$$t_R = t_o (1 + k') \quad (9)$$

Daraus folgt:

$$k' = \frac{t_R - t_o}{t_o} = \frac{t'_R}{t_o}$$

Durch Kombination der Gleichungen (1), (8) und (10) erhält man:

$$t_R = t_o (1 + k') = \frac{L}{u} (1 + k') \quad (10)$$

Diese Gleichung zeigt den grundlegenden Zusammenhang zwischen der Retentionszeit und dem Massenverteilungsverhältnis, der Säulenlänge L und der Geschwindigkeit der mobilen Phase.

Der Trenneffekt:

Die Trennung beruht in der Chromatographie auf den unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeiten u_R der retardierten Substanzen, wobei

$$u_R = \frac{L}{t_R} = \frac{L}{t_o (1 + k')} \quad (11)$$

ist.

Relative Retention α :

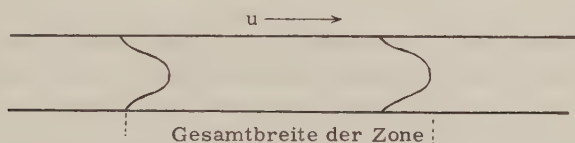
Wie aus Gleichung (11) ersichtlich, wird die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Probekomponenten durch die verschiedenen k' -Werte beschrieben. Das Verhältnis zweier Kapazitätsverhältnisse wird als relative Retention bezeichnet:

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} \quad (12)$$

Bandenverbreiterung:

Die Bandenverbreiterung arbeitet gegen die chromatographische Trennung, sie verschlechtert die Trennung und muß nach Möglichkeit vermieden werden. Ihre wichtigste Ursache sind Diffusionsvorgänge in Richtung der Säulenachse, deshalb ist eine kurze Analysenzeit erwünscht. Auch Inhomogenität in der Korngröße des Füllmaterials verbreitert die Banden, wes-

halb enge Siebfraktionen des Trägermaterials benutzt werden sollen. Die Packung muß so homogen wie möglich sein, insbesondere sind Luftblasen in der Säule zu vermeiden. Durch die Reibung zwischen der stationären und der mobilen Phase entsteht Wärme, die im Säuleninnern langsamer abfließt, als an der Peripherie. Bei Säulen mit größerem Durchmesser ($> 1 \text{ cm}$) oder bei hohen Fließgeschwindigkeiten führt dies zu schnellerem Substanztransport in der Mitte der Säule, die die Bandenbreite erhöht.



Zu hohe Fließgeschwindigkeit erlaubt ferner keine vollständige Einstellung des Sorptionsgleichgewichts mehr, vor allem bei größerem Trägermaterial mit engen Poren. Der Träger soll also weitporig sein und eine geringe Korngröße haben, was aber wieder den Arbeitsdruck heraufsetzt. Es sind also Kompromisse nach verschiedenen Seiten notwendig.

Ein weiterer Faktor ist die Kinetik des Phasenüberganges von der mobilen in die stationäre Phase und zurück. (Diffusion in der stationären Phase, verzögerte Desorption an aktiven Oberflächen).

Beim einfachsten Modell betrachtet man diese Zufallsprozesse formal als voneinander unabhängig und beschreibt die Varianz des Bruttoeffekts σ^2 als die Summe der Einzelvarianten der Elementarprozesse. Als Maß für diese Bandenverbreiterung dient die Bodenhöhe, die von Martin und Synge¹⁶⁾ in Analogie zur Destillation als "Höhenäquivalent eines theoretischen Bodens", abgekürzt HETP (height equivalent to a theoretical plate) in der chromatographischen Literatur bezeichnet wird.

Charakterisierung der Trennsäule durch "Bodenhöhe" und "Bodenzahl"

Bodenhöhe:

Die Bodenhöhe kann den chromatographischen Prozeß nicht beschreiben, sie gibt nur die Größe der Bandenverbreiterung an. Sie ist definiert nach

$$h = \frac{\sigma_L^2}{L} \quad (13)$$

σ^2 ist die Varianz der Gauss'schen Kurve. Diese Definition gilt nur bei konstanter Temperatur, Strömungsgeschwindigkeit, konstantem Phasenverhältnis und Verteilungskoeffizienten. Die Varianz ist in Längeneinheiten gemessen. Auf dem Schreiberdiagramm erscheint die Varianz in Zeiteinheiten. Durch Umformung¹⁷⁾ erhält man

$$h = \frac{\sigma_L^2}{L} = L \cdot \frac{\sigma_t^2}{t_R^2} \quad (14)$$

Die Varianz wird aus dem Chromatogramm bestimmt. Die Strecke auf der Basislinie der Gauss'schen Kurve zwischen den Schnittpunkten der beiden Wendetangenten entspricht genau 4σ und wird als w bezeichnet. Es folgt aus Gl. (14):

$$h = \frac{L}{16} \left(\frac{w}{t_R} \right)^2 \quad (15)$$

Mit dieser Gleichung wird die Bodenhöhe bestimmt. Sie gibt nur eine Aussage über die Bandenverbreiterung, bezogen auf die Säulenlänge, und nicht über die Trennung.

Bodenzahl:

Häufig wird noch eine andere Zahl verwendet, die von der Säulenlänge abhängig ist, die Bodenzahl n .

$$n = \frac{L}{h} = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (16)$$

Bessere Aussagen über Trennmöglichkeiten in einer Trennsäule geben die effektive Bodenzahl N_{eff} und die effektive Bodenhöhe H_{eff} . Sie sind folgendermaßen definiert:

$$N_{\text{eff}} = 16 \left(\frac{t'_R}{W} \right)^2 = 16 \left(\frac{k'}{1 + k'} \right)^2 \cdot \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (17)$$

$$H_{\text{eff}} = \frac{L}{N_{\text{eff}}} = \frac{L}{16} \left(\frac{w}{t'_R} \right)^2 = \frac{L}{16} \left(\frac{1 + k'}{k'} \right)^2 \cdot \left(\frac{w}{t_R} \right)^2 \quad (18)$$

Der konventionelle Name von H "Höhenäquivalent eines theoretischen Bodens" ist irreführend, er erweckt Analogiebilder zur Destillation, die falsch sind. Es soll darauf hingewiesen werden, daß H_{eff} nur für eine einzelne Komponente bei gegebener Geschwindigkeit definiert ist. Die Bodenzahl ist nicht in der Lage, eine Trennung zu beschreiben. Eine Säule kann 100 000 Böden erzeugen, aber bei sehr kleinen Unterschieden im Massenverteilungsverhältnis können die 100 000 Böden nicht ausreichen, zwei Substanzzonen voneinander zu trennen.

Auflösung:

Die Auflösung macht eine direkte Aussage über die Trennleistung der verwendeten Säule. Aufgelöst erscheinen zwei Peaks, wenn sie sich in den Retentionszeiten unterscheiden und so schmal sind, daß ein Überlappen nicht mehr stattfindet. Da jedes Trennproblem eines Vielkomponentengemisches auf das der zwei am schwierigsten trennbaren Bestandteile zurückgeführt werden kann, bezieht man R stets auf zwei Komponenten und schreibt $R_{A B}$ (Auflösung bezüglich A und B).

$$R_{AB} = \frac{2(t_{RB} - t_{RA})}{W_A + W_B} \quad (19)$$

Je größer R wird, desto besser wird die Auftrennung der beiden Peaks. Wenn $R = 1$, dann beträgt der Abstand der beiden Peakmaxima gerade 4σ . In diesem Fall beträgt die Überlappung nur 2 %.

Vollkommene Grundlinientrennung erhält man bei einem 6σ Abstand der Peakmaxima ($R_{AB} = 1,5$). Wird der R_{AB} -Wert von 0,8 unterschritten, ist die Auflösung ungenügend.

Durch geeignete Umformung erhält man aus Gl. (19)

$$R_{AB} = \frac{1}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \sqrt{N_B} \quad (20)$$

Demnach ist für die Auflösung die relative Retention α und die effektive Bodenzahl N_{eff} maßgebend.

Entsprechend dem funktionellen Zusammenhang in Gl. (20) verbessert eine geringe Änderung von α die Auflösung mehr als eine Steigerung der effektiven Bodenzahl durch Verlängerung der Trennsäule (Verdoppelung der Säulenlänge verbessert N um den Faktor $\sqrt{2}$, erhöht aber die Analysenzeit um das Zweifache. In der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie sind deshalb kurze Säulen und große relative Retentionen der Komponenten erwünscht. Ist entweder α oder N_B gleich Null, so ist eine Trennung nicht möglich.

1.2. Themenstellung

Den Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit bildeten die zahlreichen dünn-schichtchromatographischen Untersuchungen und Trennungen an Polyamid. Uns interessierte, inwieweit Polyamid allgemein nun in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie als stationäre Phase Verwendung finden kann. Des weiteren kam es darauf an zu zeigen, ob und wie sich verschieden strukturierte Polyamide hinsichtlich der zu trennenden Komponenten unterscheiden. Als Bezugssubstanzen kamen Derivate des Anilins, Phenols und Benzochinons zur Anwendung.

Da Polyamid wegen seiner Kompressibilität bei hohen Drucken und seinem geringen Schüttgewichtes nicht direkt in der Hochdruck-Flüssig-Chromatographie eingesetzt werden kann, mußten druckstabile Trägermaterialien gefunden werden, auf die das Polyamid aufgebracht werden konnte.

Weiter kam es uns darauf an zu zeigen, ob Molekulargewichtsunterschiede ein und desselben Polyamids zu unterschiedlichen Trennergebnissen führten.

Ein weiterer Faktor, der Einfluß auf die Trennungen an Polyamiden hat, ist die mobile Phase. Es handelte sich bei unseren Versuchen um zwei binäre Gemische von n-Hexan mit je 1 % Methanol bzw. Essigsäure.

Da in der Literatur des öfteren Trennungen an stationäre Phasen, die chemisch gebundene, langkettige Kohlenwasserstoffreste enthalten, über den Mechanismus der "Reversed Phase-Chromatography" beschrieben sind, interessierte uns, ob auch ein solcher Trennmechanismus schon am Polyamid-12, das ja zwischen den einzelnen Carbonamidgruppierungen 11 Methylengruppen enthält, zu verzeichnen ist.

2. Hauptteil

2.1. Theoretische Feststellungen über den physikalischen Aufbau der Polyamide

Da die Polyamide als stationäre Phasen die Grundlage unserer chromatographischen Arbeit sind und Trennergebnisse Rückschlüsse auf die Struktur der einzelnen Polyamide zulassen, sei an dieser Stelle eine kurze Übersicht über den physikalischen Bau der Polyamide gegeben.

Homopolyamide, wie z. B. das 6-Polyamid, sind bei normaler Temperatur teilweise kristallisierte Stoffe. Der Kristallisationsgrad erreicht, wie auch bei anderen zur Kristallisation befähigten Hochpolymeren, niemals 100 %. Er liegt bei den Polyamiden im allgemeinen unterhalb von 50 %. Der andere Teil des Polyamids befindet sich in einem amorphen Zustand, der mit dem einer Flüssigkeit bzw. eines Glases verglichen werden kann.

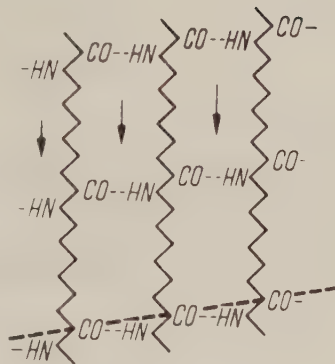
Die Ordnung der Polyamide in kristalline Bereiche wird bei aliphatischen Homopolyamiden im wesentlichen bestimmt durch die regelmäßig angeordneten Carbonamidgruppen und ihre Fähigkeit, mit anderen Carbonamidgruppen Wasserstoffbindungen einzugehen ^{18, 19)}.

Daß die vollständige Ausbildung der Wasserstoffbrücken im kristallinen Anteil stets eine ganz bestimmte Gruppierung der Moleküle im Kristall verlangt, zeigt die schematische Darstellung in folgenden Bildern.

Bei den Polyamiden des Typs AB, die sich aus einer Grundkomponente herleiten, wird der Aufbau so vollzogen, daß eine Kohlenwasserstoffkette aus einer stets gleichen Anzahl CH_2 -Gruppen beim Fortschreiten in Richtung der Kette von gleichgerichteten $-\text{NH}-\text{CO}-$ Gruppen unterbrochen wird. Bei diesen Polyamidklassen mit geradzahliger Anzahl von CH_2 -Gruppen liegen die $\text{NH}-$ und $\text{CO}-$ Gruppierungen stets einander so gegenüber, daß

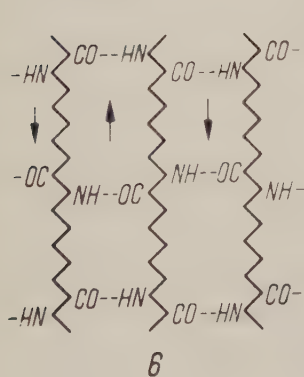
sie Wasserstoffbindungen eingehen können (Abb. 2a).

Ist die Anzahl der Methylen-
gruppen ungeradzahlig, so lie-
gen die NH- und CO-Gruppen
nur dann gegenüber, wenn die
polar gebauten Polyamid-
ketten einander entgegenlaufen
(Abb. 2b). Laufen sie gleich-
sinnig, so kann sich entweder
nur die Hälfte der Wasser-
stoffbindungen ausbilden
(Abb. 2c) oder es können sich
alle Bindungen ausbilden, wenn
eine Kette gegenüber der
nächsten um den halben Ab-
stand von zwei übereinanderlie-
genden CH_2 -Gruppen verschoben ist (Abb. 2d), so daß die CO-Gruppen



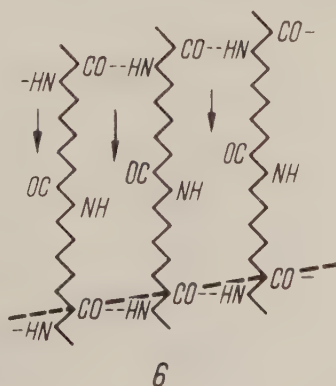
Polyamid: 7

Abb. 2a



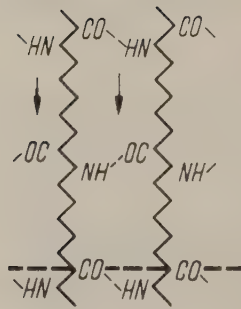
6

Abb. 2b



6

Abb. 2c



Polyamid: 6

Abb. 2 d

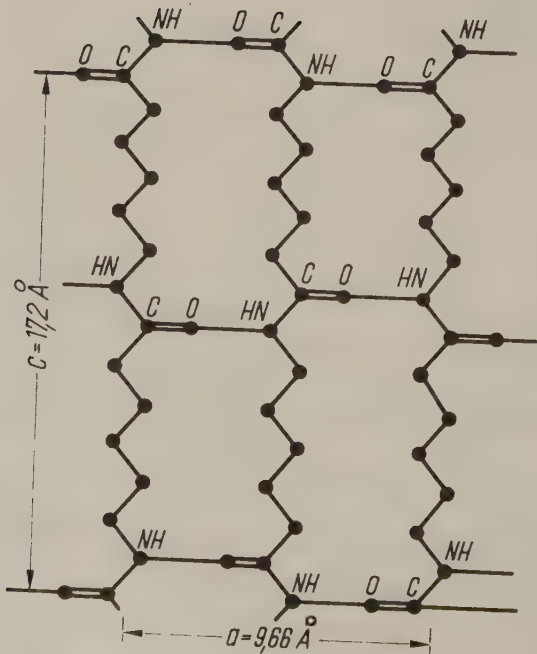


Abb. 3

auf eine Horizontale zu liegen kommen. Die gegenüberliegenden CO- und NH-Gruppen sind dabei aber nach der schematischen Zeichnung in einer ungünstigen gegenseitigen Lage, weil die Wasserstoffbrückenbindung dann am stärksten ist, wenn die vier Atome C, O, H und N auf einer Geraden liegen.

In Abbildung 3 sei noch einmal das 6-Polyamid mit den Identitätsperioden a und c und den Wasserstoffbindungen wiedergegeben. Die CH_2 -Ketten der Polyamidmoleküle sind in der Richtung der Faserachse vollkommen ausgestreckt. Zwei Grundmoleküle bilden die Identitätsperiode in der Faserrichtung mit einer Länge von $c = 17,2 \text{ \AA}$. Benachbarte Ketten laufen einander entgegen und die $\text{NH} \dots \text{CO}$ -Bindungen zwischen ihnen liegen in Richtung der a-Achse nicht auf einer fortlaufenden Linie, sondern abwechselnd oberhalb und unterhalb einer gedachten Geraden.

2.2. Chromatographie an Polyamid

Obwohl in der Literatur eine große Anzahl von Packungsmaterialien für die herkömmliche Säulenchromatographie aufgeführt ist, können einige davon wegen ihrer physikalischen Instabilität in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie nicht eingesetzt werden.

Ein Sorptionsmittel, welches in der Dünnschichtchromatographie und Flüssigchromatographie sehr erfolgreich verwendet wird, das aber wegen seiner starken Kompressibilität unter hohen Drucken in der schnellen Flüssigchromatographie keine Anwendung fand, ist Polyamid. Besonders die Vielseitigkeit dieses Sorbens in der Dünnschichtchromatographie kommt in vielen Veröffentlichungen zum Ausdruck ²⁰⁻³²).

Auch Trennmechanismen, die an Polyamid als stationärer Phase auftreten können, sind vielfach diskutiert worden ³³⁻³⁹); hier versuchten besonders Zwata und Hölzel ⁴⁰) an Hand allgemeiner Überlegungen den Trenn-

mechanismus an Polyamid zu erklären.

Ein Trennmechanismus, der sowohl in der DC als auch LC von tragender Bedeutung ist, ist die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen, die hinsichtlich der Struktur der Polyamide möglich ist.

Diese Wasserstoffbrückenbindungen können entweder zur Carbonylgruppe oder von dem Wasserstoff der Aminogruppe des Polyamids gebildet werden, wie Abb. 4 zeigt.

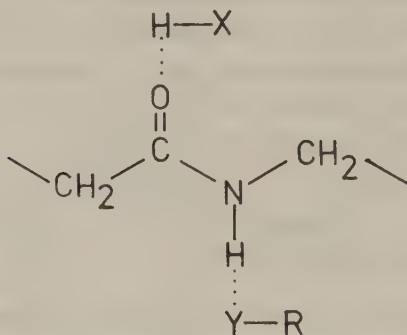


Abb. 4

(Wasserstoffbrückenbindung am Polyamidgrundgerüst.

X und Y sind elektronegative Gruppen von Verbindungen)

3. Experimenteller Teil

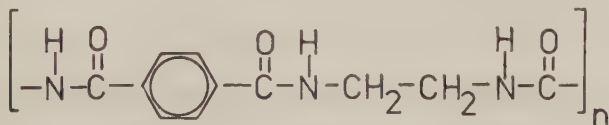
3.1. Herstellung der stationären Phasen

Der Verwendung von Polyamid in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie stehen folgende Tatsachen im Weg:

Das geringe Schüttgewicht macht das Packen einer Kolonne schwierig (Polyamide mit einem Methylengruppenanteil > 6 zwischen den einzelnen Carbonamidgruppierungen laden sich außerdem leicht elektrostatisch auf und machen daher das Füllen in eine Säule unmöglich).

Unter hohen Drucken sind die meisten Polyamide kompressibel. Sie fließen quasi unter Druck. Dies hat zur Folge, daß sich am Anfang der Säule nach einiger Zeit ein Totvolumen bildet, da das Polyamid zusammengepreßt wird und außerdem die Säule verstopft, so daß auch bei noch so hohen Drucken keine mobile Phase mehr austreten kann.

Auch Versuche, ein Polyamid zu synthetisieren, welches ausgesprochene Kristallinität aufweist, so wie es im Polyäthylenterephthalamid



vorliegt, und nach Vorbereitung als Sorbens in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie einzusetzen, verliefen negativ. Hier bildete sich zwar bei Anwendung hoher Drucke kein mit den anderen Polyamiden vergleichbares Totvolumen, aber es wurde beobachtet, daß sich bei Anwendung bestimmter (polarer) mobiler Phasen die Volumengeschwindigkeit

keit nach und nach verringerte und praktisch nur noch bei sehr großen Eingangsdrucken aufrechterhalten werden konnte. Eine Reproduktion solcher Säulen ist somit unmöglich. Da aber dieses Sorptionsmittel praktisch inkompressibel ist, kann ein Abfall der Volumengeschwindigkeit nur so erklärt werden, daß der polare Anteil der mobilen Phase mit dem Polyamid in Wechselwirkung tritt und dieses zum Quellen bringt.

Da die mobile Phase, die in unseren Versuchsreihen verwendet wurde, einmal aus n-Hexan, das mit je 1 % Methanol bzw. Eisessig versetzt war, und zum anderen in der 'Reversed-Phase-Technik' aus mindestens 75 % Wasser bestand, war in allen Fällen mit einer mehr oder weniger ausgeprägten Quellung des Polyamids zu rechnen ⁴¹⁾.

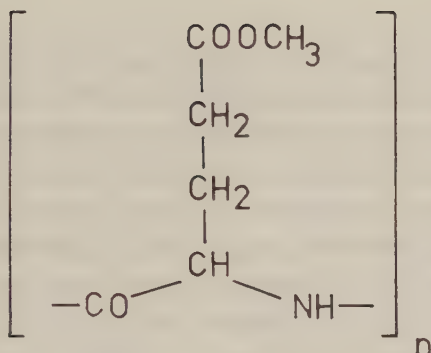
Dieser Quellbarkeit und Kompressibilität konnte Abhilfe geschaffen werden, indem man druckstabile Trägermaterialien als Grundlage nahm, auf die man die entsprechenden Polyamide als Film aufbrachte.

Als Grundkörper wurden poröse Kieselgele verwendet. Sie besitzen eine relativ große Oberfläche und großes Porenvolumen. Es waren das LiChrosorb SI 100 und das Merckogel SI 500 der Firma Merck.

Andere druckstabile Materialien, wie Aluminiumoxide oder Glaskugeln, deren Oberfläche angeätzt war (Perisorb A der Firma Merck), fanden keine Verwendung, da diese Teilchen nur Belegungen $< 1\%$ zulassen, was nur zu sehr geringen Belastbarkeiten führt.

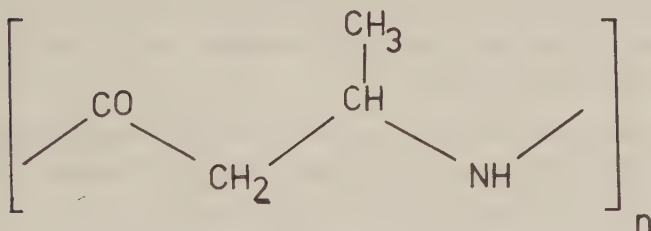
Als eigentliche Sorptionsmittel kamen folgende Polyamide zur Anwendung:

1. Poly- γ -methyl-L-glutamat. Dieses Polymere mit Polyamidstruktur wurde uns von der japanischen Firma KANE-MATSU-GOSHO zur Verfügung gestellt.



Als Grundgerüst haben wir hier also ein Polyamid-2.

2. Poly-4-methyl-azetidinon-2, ein Produkt der Farbwerke Hoechst



Dieses Grundgerüst kann als Polyamid-3 angesehen werden.

3. 6-Polyamid (Polycaprolactam)

Dieses Polyamid (Ultramid) von der Firma BASF war für uns deswegen interessant, weil wir hieran die Möglichkeit hatten, den Einfluß des Polymerisationsgrades bei der Chromatographie zu untersuchen.

4. 12-Polyamid, Vestamid, hergestellt von den chemischen Werken Hüls

Die porösen Kieselgele wurden folgendermaßen belegt:

Das entsprechende Polyamid (0,5 g) wurde in 30 ccm heißer konzentrierter Ameisensäure gelöst. Dazu gab man 5 g des Kieselgels und erwärmte noch ca. 30 min unter Rückfluß. Anschließend wurde die Ameisensäure am Rotationsverdampfer aus einem speziell angefertigten Rundkolben abgezogen. Dieser Rundkolben hatte mehrere kegelförmige, kleine Einbuchtungen, die dazu dienten, das am Ende der Rotationsverdampfung anfallende, mit dem Polyamid belegte Kieselgel rieselfähig zu halten und somit eine saubere und gleichmäßige Belegung zu sichern. Anschließend wurde die anfallende Charge grob gesiebt, um Reste von ausgefälltem Polyamid und zusammengeklebten Teilchen zu entfernen. Das Pulver wurde danach ca. 2 Std. im Hochvakuum bei einer Temperatur erhitzt, die nur gering unter der Erweichungstemperatur des entsprechenden Polyamids lag. Dies ist notwendig, um auch noch die letzten Reste an Ameisensäure zu entfernen, die sonst eine Verfälschung der Meßwerte ergeben könnten. Nach dem Abkühlen und Feinsieben kann die stationäre Phase sofort verwendet werden.

Wir haben in einem Versuch festgestellt, daß durch die Belegung des Kieselgels dessen Aktivität verlorengeht. Dazu diente folgender Test ⁴²⁾.

In einem Reagenzglas übergießt man eine Probe des Adsorbens (ca. 1 g) mit einigen Millilitern einer 1 %igen Lösung von Triphenylchlormethan in abs. Benzol. Bei unbelegtem, ausgeheiztem Kieselgel färbte sich das Präparat gelb, hingegen blieb eine solche Färbung bei Kieselgel, welches mit einem Polyamid belegt war, aus. Hier liegt eine Primäradsorption des Polyamids zum Kieselgel vor.

Diese fertigen stationären Phasen wurden zusätzlich noch acetyliert ⁴³⁾, um eine Reaktion der eventuell noch vorhandenen freien Aminogruppen der Polyamide mit den Chinonen zu unterbinden. Endres ³⁵⁾ beschrieb diesen Effekt bereits bei dünnenschichtchromatographischen Untersuchungen.

In unseren Versuchsreihen kamen Siebfractionen von 25 - 32 μ m Teil-

chendurchmesser zur Verwendung.

Es wurde versucht, alle Meßreihen unter gleichen Voraussetzungen durchzuführen. Deshalb wurde eine max. Belegung von 10 % beibehalten.

Diese Belegung kann bei den Polyamiden -6 und -3 noch auf 15 % gesteigert werden. Da aber das Poly- γ -methyl-L-glutamat und auch das Polyamid-12 nur Belegungen bis zu maximal 10 % zulassen, wurde diese Belegung allgemein beibehalten. Eine Einschränkung mußte trotzdem bei dem Polyamid-12 gemacht werden, da es sich nur auf Merckogel SI 500 mit einer Siebfraction von 40 bis 50 μm Teilchendurchmesser aufbringen läßt. Dies scheint seine Ursache in der starken elektrostatischen Aufladung des Polyamids im pulverförmigen Zustand zu haben, die einer Belegung kleiner Teilchen entgegen steht.

3.2. Apparatur

Blockschaltbild:

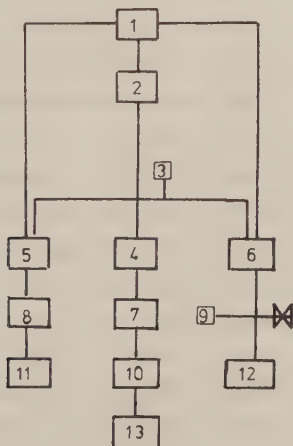


Abb. 4 : Blockbildschaltung des verwendeten Hochdruckflüssigchromatographen

Die Untersuchung der chromatographischen Eigenschaften der hergestellten Phasen erfolgte mit einem im Eigenbau hergestellten Hochdruck-Flüssigkeit-Chromatographen, dessen Aufbau und Funktionsweise der in der Literatur beschriebenen Apparatur entspricht⁴⁴⁾, und dessen Blockschaltbild in Abb. 4 (Seite 21) wiedergegeben ist.

Bezeichnung des Blockschaltbildes:

- | | |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Vorratsgefäß f. mobile Phase | 8. Sicherheitsventil (Steuerteil) |
| 2. Pumpe | 9. Manometer (Gasraum) |
| 3. Manometer (Einspritzblock) | 10. Detektor |
| 4. Einspritzblock | 11. Preßluft |
| 5. Sicherheitsventil | 12. Stickstoff |
| 6. Druckregler | 13. Schreiber |
| 7. Trennsäule | |

3.3. Detektoren

Entsprechend dem Trennproblem wurde ein UV-Absorptionsdetektor der Wellenlänge 254 nm der Firma Hupe & Busch verwendet. Dieser Detektor mißt kontinuierlich die Differenz der UV-Absorption in zwei Flüssigkeitsströmen, wobei der eine i. a. als Referenzstrom von reinem Lösungsmittel (mobile Phase) gebildet wird. Die beiden Zellen (Meß- und Vergleichszellen) werden mit einer Hg-Niederdrucklampe beleuchtet. Der Lichtweg in den Zellen beträgt 10 mm, bei 1 mm Zellendurchmesser. Das Totvolumen beträgt 8 µl.

Aus technischen Gründen konnte dieser Detektor für die "Reversed-Phase-Chromatography" nicht eingesetzt werden. Hier wurde ein vom Institut für Angewandte Physikalische Chemie in Saarbrücken entwickelter UV-Detektor benutzt. Das optische System entspricht obigem Detektor. Es

unterscheidet sich jedoch davon, da hier kein Referenzstrom benutzt wurde. Außerdem hat hier die Meßzelle nur einen Lichtweg von 5 mm.

Beide Detektoren wurden mit einem Kompensationsschreiber der Firma Siemens AG gekoppelt.

3.4. Kolonnenpräparation

Theorie und Praxis der Flüssigkeitschromatographie unter Druck erfordern die Verwendung von Säulenfüllmaterialien kleiner Korngrößen (Teilchendurchmesser um 30 μm und darunter) als Voraussetzung für gute Trennergebnisse (optimal ist ein Teilchendurchmesser von 5 - 10 μm). Weiterhin ist die Packungsqualität für die Trennleistung einer Säule von maßgeblicher Bedeutung. Um diese Bedingung zu erfüllen - d.h. eine homogene reproduzierbare Kolonnenpackung zu gewährleisten - sind geeignete, der Größe und Geometrie der Partikel angepaßte Säulenfülltechniken anzuwenden ⁴⁵⁻⁴⁸). Grundsätzlich unterscheidet man zwei Säulenfülltechniken - trockene und nasse Einfüllung -, deren Anwendung in Abhängigkeit von der Art des Säulenfüllmaterials erfolgt. Verfügt das Säulenfüllmaterial über einen mittleren Teilchendurchmesser um 30 μm , so lassen sich im allgemeinen problemlos homogene Säulenfüllungen erzielen, wenn man das Sorbens trocken in die Kolonne füllt. In die mit Steinwolle oder einer Metallfritte verschlossene Kolonne wird das Säulenfüllmaterial kontinuierlich in kleinen Mengen (10-15 Portionen für eine Säule mit einer Länge von 50 cm und einem Innendurchmesser von 2 mm) durch einen Trichter unter gleichzeitigem Aufstoßen auf einer harten Unterlage gegeben. Nach jeder Portion wird die Säule in senkrechter Stellung in möglichst rascher Folge ca. 30 mal aufgestoßen und gleichzeitig seitlich geklopft. Die letzten 10 cm wird das Sorbens mit einem Stempel, der genau in das Rohrrinnere paßt, festgedrückt.

Nach beendeter Füllung wird die Säule mit Steinwolle verschlossen.

Als Kolonnenmaterial dienten geradlinige Edelstrahlrohre von 4 mm a. D. und 2 mm i. D.. Vor dem Füllen wurden diese Kolonnen mit Methylenchlorid, verdünnter Salzsäure, Wasser und zum Schluß Aceton gereinigt.

Die gepackten Säulen wurden vor den Messungen mit der mobilen Phase etwa eine Stunde gespült, um den Staub zu entfernen.

4. Chromatographische Meßergebnisse

4.1. Mobile Phase : n-Hexan / CH₃OH (1 %)

Hinsichtlich der Polarität unterscheiden sich Methanol und Essigsäure stark voneinander. Bei unseren Versuchsreihen sollte der Einfluß der polaren Phase des binären Gemisches auf die Trennungen untersucht werden.

Es werden zuerst Trennungen an dem System n-Hexan/Methanol gezeigt.

4.1.1. Stationäre Phase: LiChrosorb SI 100, belegt mit 10 %
Polyamid-2 (Poly- γ -methyl-L - glutamat)
Teilchendurchmesser: 25 - 32 μ m

Volumengeschwindigkeit: F = 1.9 ml/min

Lineare Geschwindigkeit: u = 1.01 cm/sec

Totzeit: t₀ = 60 sec

Druckabfall: Δp = 43 atm

An diesem und auch an den folgenden Systemen wurde versucht, Trennungen von Mono- bis Tetramethyl- substituierten Benzochinonen, Äthyl- und Isopropyl- substituierten Benzochinonen, o- und p-Naphthochinonen, Anthrachinonen sowie Phenanthrenchinonen durchzuführen. Außerdem sollte untersucht werden, ob intra- oder intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen bei der Chromatographie von Hydroxy-substituierten Anthrachinonen vorliegt.

Des weiteren wurden Phenol, Phenyl- und Nitro-substituierte Phenole sowie Toluidin, Anisidin und Nitroanilin als Derivate des Anilins chromatographiert.

Die Abbildungen 5 - 8 zeigen die Chromatogramme der Chinonderivate.

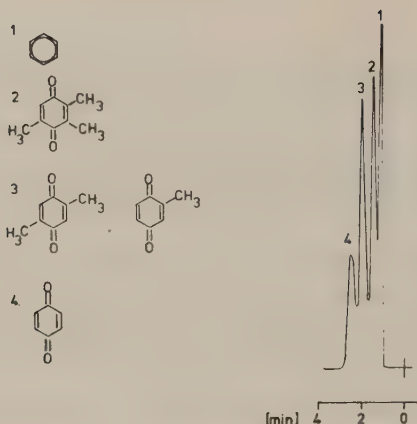


Abb. 5

Für Benzochinon beträgt die effektive Bodenzahl $N_{\text{eff.}} = 87$ bei einer linearen Geschwindigkeit von $u = 1.01 \text{ cm/sec.}$

Die Auflösung der Trennung, die sich auf die beiden am schlechtesten getrennten Banden bezieht (in diesem Fall Signal 3 und 4) beträgt:

$$R_{3,4} = 0,84$$

(Wenn $R = 0,8$ ist, ist die Trennung ungenügend; ist $R = 1,5$ liegt optimale Auflösung vor. Ist $R > 1,5$, so verlängert sich die Analysenzeit überflüssigerweise).

Die k' -Werte des Trimethyl- und Tetramethylbenzochinons sind identisch. Desgleichen kann an diesem System keine Auftrennung des Di- und Monomethylchinons erreicht werden.

Sowohl am Poly- γ -methyl-L-glutamat als auch an den anderen Polyamiden ist es nicht möglich gewesen, die isomeren Dimethylbenzochinone zu isolieren.

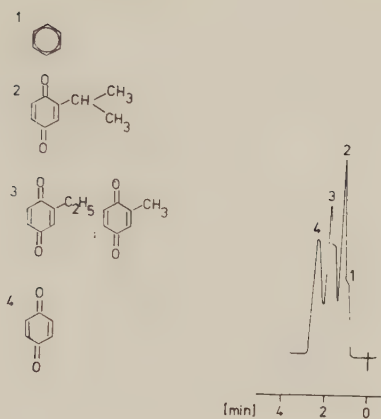


Abb. 6

Den Einfluß der Kettenlänge auf die Trennung zeigt Abb. 6 . Hier lassen sich die Methyl- von der Äthylverbindung, die nur als Schulter erkennbar ist, nicht trennen. Das Signal des Isopropylbenzochinons ist fast mit dem Inertpeak identisch.

N_{eff} beträgt für Isopropylbenzochinon 5,8 bei einer linearen Geschwindigkeit $u = 1,01 \text{ cm/sec}$.

Die Auflösung $R_{3,2}$ ergibt sich zu 0,92.

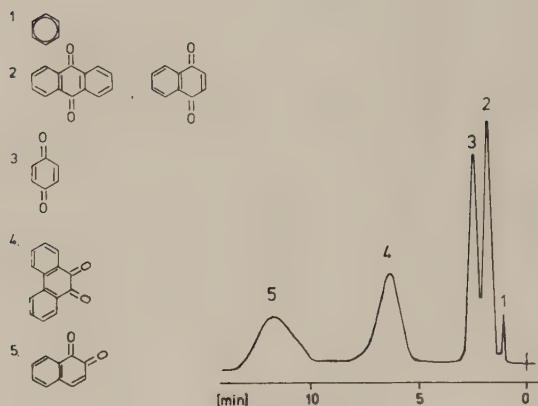


Abb. 7

$N_{\text{eff.}}$ (Phenanthrenchinon) = 85 bei $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,8$

Abb. 7 zeigt die Trennung der 1,4-Chinone von 1,2-Chinonen. Anthrachinon und 1,4-Naphthochinon werden gleichzeitig eluiert. Der k' -Wert des 1,2-Naphthochinons ($k' = 10,80$) liegt aber schon so hoch, so daß von einer sinnvollen Trennung nicht gesprochen werden kann.

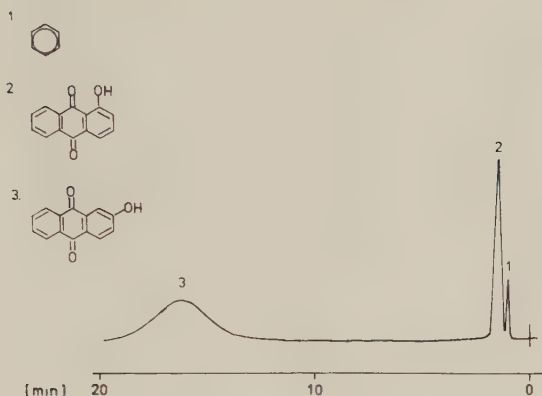


Abb. 8

$N_{\text{eff.}}$ (1-Hydroxyanthrachinon) = 11,2 bei $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 3,42$

Die Trennung des 1- vom 2-Hydroxyanthrachinon basiert auf der Ausbildung intramolekularer H-Brückenbindungen der Hydroxygruppe mit der Carbonylgruppe des Chinons. Beim 2-Hydroxy-anthrachinon ist diese Möglichkeit nicht mehr gegeben. Hier gehen sowohl die Carbonylgruppierungen einerseits als auch die Hydroxygruppe andererseits mit den Peptidbindungen des Polyamidgrundgerüsts Wasserstoffbrückenbindungen ein, was einen k' -Wert von 16,10 zu 0,5 der 1-Hydroxyverbindung erklärt. Die Zeit, die für diese Trennung aufgewendet werden muß, ist jedoch für die HPLC undiskutabel.

Mono-Methylsubstituierte Naphtho- und Anthrachinone werden an diesem System nicht retardiert.

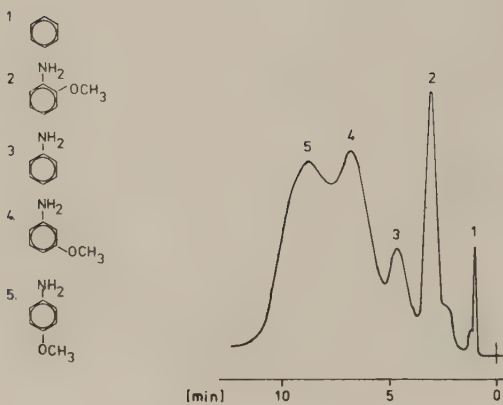


Abb. 9

$N_{\text{eff.}} (\text{o-Anisidin}) = 58,5$ bei $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

$R_{4,5} = 0,63$

Eine Trennung der Anisidine ist nur bedingt möglich, da sich die m- von der p- Verbindung nur durch ihre Peakmaxima unterscheiden.

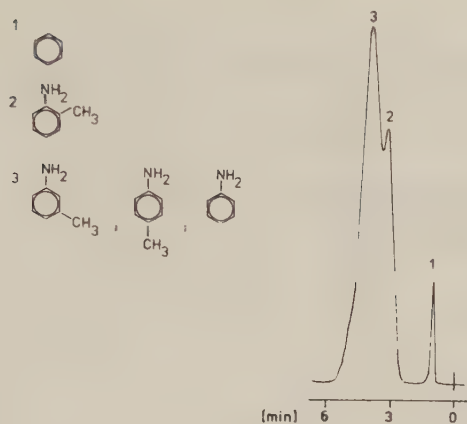


Abb. 10

$N_{\text{eff.}}$ (m, p-Toluidin) = 15,0 bei $u = 1,01$ cm/sec

$R_{2,3} = 0,47$

Eine brauchbare Analyse der isomeren Toluidine ist nicht erreichbar.

Die Nitroaniline und auch die Phenolderivate werden so stark retardiert, daß sie mit dieser mobilen Phase nicht eluiert werden konnten.

4.1.2. Stationäre Phase: LiChrosorb SI 100 belegt mit 10 % Polyamid-3 (Poly-4-methyl-azetidinon-2)
Teilchengröße: 25-32 μm

Volumengeschwindigkeit: $F = 1,8 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_0 = 58,5 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 46 \text{ atm}$

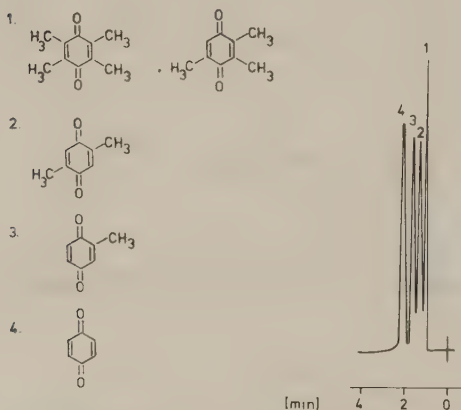


Abb. 11

N_{eff} (Tetramethylbenzochinon) = 61 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 1,3$

An diesem System ist zwar auch keine Auftrennung der Trimethyl- von der Tetramethylverbindung des Benzochinons möglich, jedoch läßt sich die Mono- von der Dimethylverbindung abtrennen, was bei dem Polyamid-2 als stationärer Phase nicht möglich war.

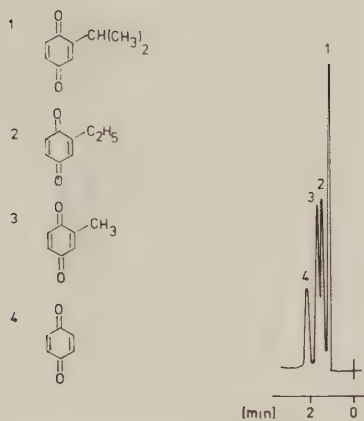


Abb. 12

$N_{\text{eff.}}$ (Benzoquinon) = 92 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,67$

Auch läßt sich hier das Äthylbenzoquinon vom Methylbenzoquinon abtrennen.

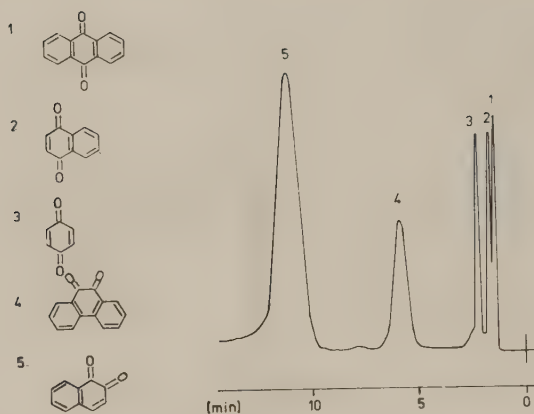


Abb. 13

$N_{\text{eff.}}$ (Anthrachinon) = 72 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 1,2$

Abb. 13 zeigt zwar keine Analysierung in wesentlich kürzeren Trennzeiten im Vergleich zum Polyamid-2, hier werden aber das 1,4-Naphthochinon vom 1,4-Anthrachinon getrennt eluiert.

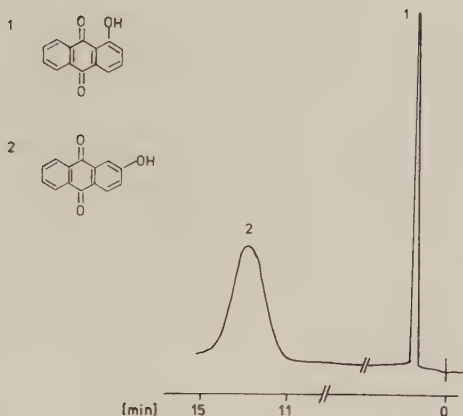


Abb. 14

$N_{\text{eff.}}$ (1-Hydroxyanthrachinon) = 28 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 6,4$

Der k' -Wert des 1-Hydroxyanthrachinons entspricht dem am Polyamid-2 chromatographierten. Die 2-Hydroxyverbindung wird am Polyamid-3 jedoch schwächer gebunden und somit schneller eluiert, was im k' -Wert von 13,40 zum Ausdruck kommt.

Die Methyl-Anthrachinon und Naphthochinon-Verbindungen werden nicht retardiert.

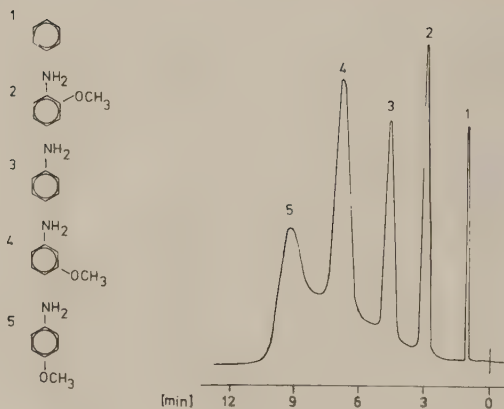


Abb. 15

$N_{\text{eff.}}$ (o-Anisidin) = 41 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{4,5} = 1,19$

Abb. 15 zeigt die Auftrennung der isomeren Anisidine nebst Anilin als Bezugssubstanz.

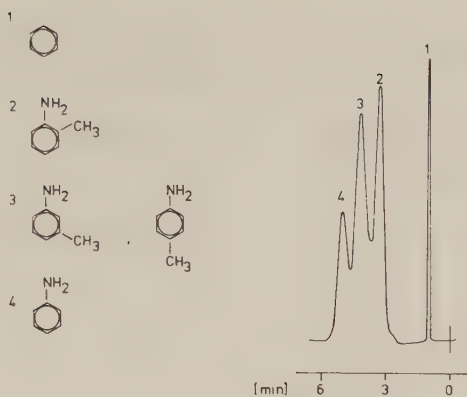


Abb. 16

$N_{\text{eff.}}$ (o-Toluidin) = 179 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 1,05$

Von den isomeren Toluidinen lassen sich die m- von der p-Verbindung nicht auftrennen. Sie werden aber vom Anilin getrennt eluiert.

Eine Elution der substituierten Phenole und der Nitroaniline konnte nicht erreicht werden.

4.1.3. Stationäre Phase: LiChrosorb SI 100, belegt mit 10 %
Polyamid-6, Teilchengröße: 25-32 μm

Volumengeschwindigkeit: $F = 2,1 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_0 = 48 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 49 \text{ atm}$

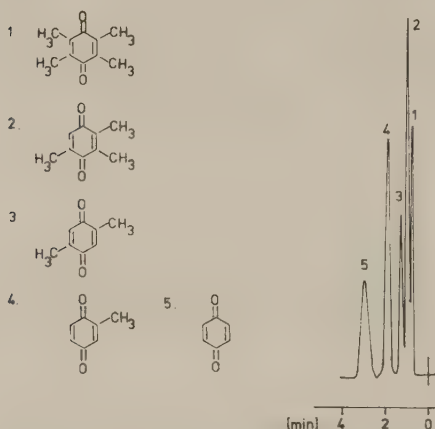


Abb. 17

$N_{\text{eff.}}$ (Benzochinon) = 196 bei $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 1,00$

Die Tetramethylverbindung des Benzochinons wird hier nicht retardiert.
Es ist eine Trennung der fünf Verbindungen möglich.

Ebenso ist sogar eine Basislinientrennung des Methyl-, Äthyl- und Isopropyl-benzochinons vom unsubstituierten Benzochinon möglich, wie es Abb. 18 zeigt.

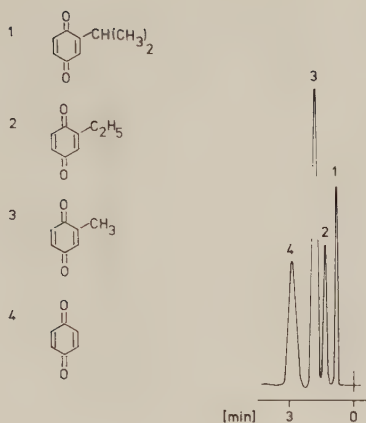


Abb. 18

$N_{\text{eff.}}$ (Methylbenzochinon) = 100 bei $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 1,22$

An dieser mobilen Phase konnten die methylsubstituierten Anthra- und Naphthochinone von den entsprechenden unsubstituierten Verbindungen getrennt werden, wie es Abb. 19 zeigt.

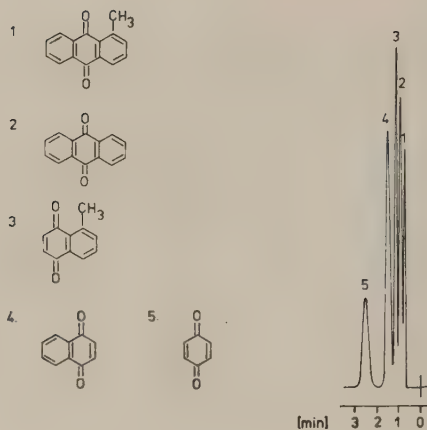


Abb. 19

$N_{\text{eff.}}$ (Naphthochinon-1,4) = 49 bei $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 1,0$

Hingegen konnten das o-Naphthochinon und das Phenanthren-
chinon nicht eluiert werden. Gleiches trifft für die beiden
Hydroxyanthrachinone zu.

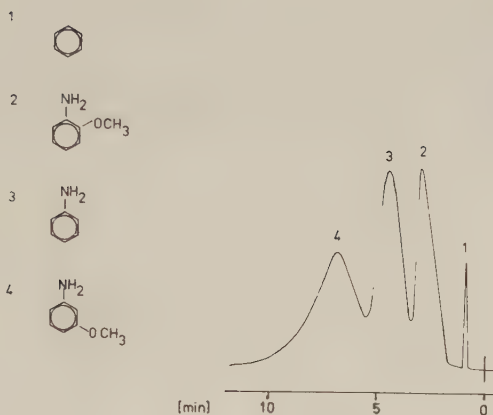


Abb. 20

$N_{\text{eff.}} \text{ (o-Anisidin) } = 56 \text{ bei } u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,81$

Außer dem p-Anisidin, das sehr stark retardiert wird, lassen sich o- und m-Anisidin vom Anilin trennen.

Die Toluidine lassen sich nicht auftrennen.

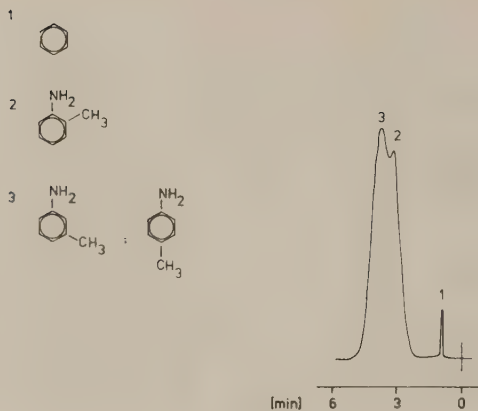


Abb. 21

$N_{\text{eff.}} \text{ (m-, p-Toluidin) } = 28 \text{ bei } u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,36$

Von den 3 Nitroanilinen konnte nur das o-Nitroanilin mit einem relativ großen k' -Wert von 7,11 eluiert werden. Dieser k' -Wert ist größer als der des reinen Anilins!

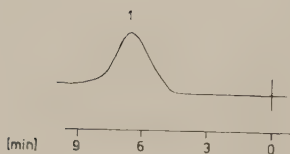
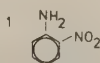


Abb. 22

An dieser stationären Phase konnten erstmals Phenol und einige seiner Derivate getrennt werden. Hingegen konnte eine Trennung der Nitrophenole nicht erreicht werden. Selbst das o-Nitrophenol, bei dem eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung angenommen werden kann, wird nicht eluiert.

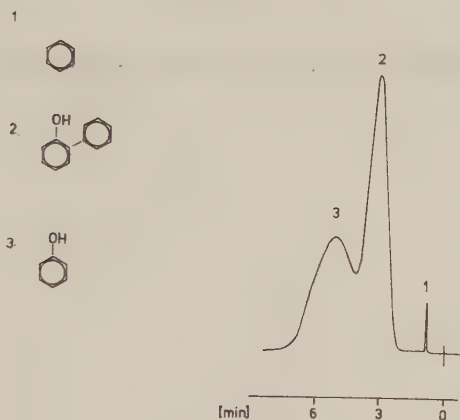


Abb. 23

$N_{\text{eff.}}$ (o-Hydroxy-diphenyl) = 29 bei $u = 1,12$ cm/sec

$R_{2,3} = 0,77$

Identisch mit dem Signal 2 (Abb. 23) ist das 2,3,5-Trimethyl-phenol und das 2-Methyl-5-isopropyl-phenol.

Mit dem Phenol (Signal 3) werden gleichzeitig o- und m-Kresol, 2,5-Dimethyl-phenol und das p-Hydroxy-diphenyl eluiert.

4.1.4. <u>Stationäre Phase:</u>	Merckogel SI 500, belegt mit 10 % Polyamid-12, Teilchendurchmesser 40-50 μm
<u>Volumengeschwindigkeit:</u>	$F = 2,0 \text{ ml/min}$
<u>Lineare Geschwindigkeit:</u>	$u = 1,06 \text{ cm/sec}$
<u>Totzeit:</u>	$t_o = 48 \text{ sec}$
<u>Druckabfall:</u>	$\Delta p = 20 \text{ atm}$

An dieser stationären Phase tritt keine Retention der alkylsubstituierten Chinone auf.

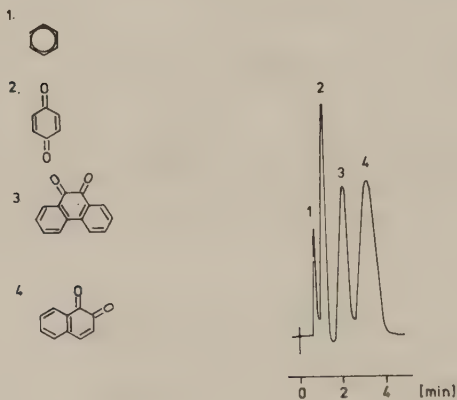


Abb. 24

$N_{\text{eff.}}$ (Naphthochinon) = 47 bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 1,04$

Der k' -Wert des unsubstituierten Benzochinons ($k' = 0,38$) ist hier ungefähr mit dem der Tetramethylverbindung am Polyamid-2 ($k' = 0,30$) vergleichbar.

Auch 1.4-Naphthochinon und das Anthrachinon sowie deren methyl-substituierte Derivate werden hier mit der Inertsubstanz eluiert.

Eine gute Trennung in einer vernünftigen Zeit wird bei dem 1.2-Naphthochinon und dem Phenanthrenchinon, also o-Chinonen, vom Benzo-
chinon erreicht.

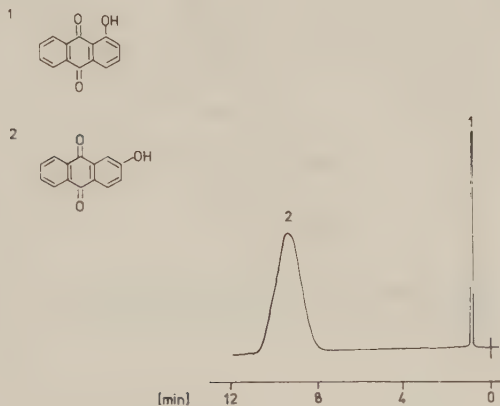


Abb. 25

$N_{\text{eff.}}$ (2-Hydroxyanthrochinon) = 123 bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 5,2$

Die k' -Werte des Hydroxyanthrachinon, besonders der 2-Verbindungen, liegen an dieser stationären Phase tiefer als beim Polyamid-2 und -3 (s. Abb. 25).

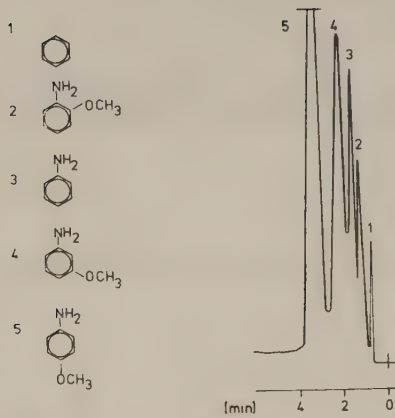


Abb. 26

$N_{\text{eff.}}$ (p-Anisidin) = 197 bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 0,67$

Am Polyamid-12 lässt sich eine vollständige Auftrennung der 3 isomeren Anisidine erreichen. Interessanterweise werden die Toluidine nicht retardiert. Sie sind dem Signal des Inertstoffes identisch.

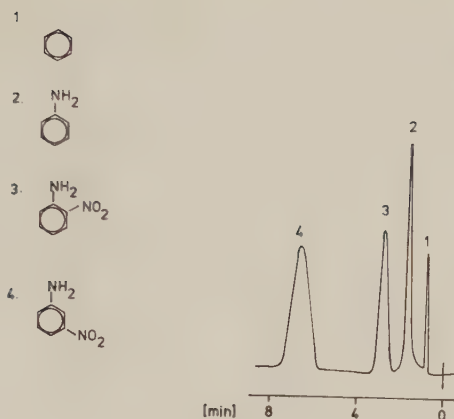


Abb. 27

$N_{\text{eff.}}$ (m-Nitroanilin) = 186 bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 2,2$

Abb. 27 zeigt das Chromatogramm der Nitroaniline. Die para-Verbindung wird nicht eluiert. Auch hier hat, wie beim Polyamid-6 als stationärer Phase, die o-Verbindung einen größeren k' -Wert ($k' = 2,50$) als das reine Anilin ($k' = 1,15$).

Einen großen Unterschied zu den Nitroanilinen zeigen die Nitrophenole.

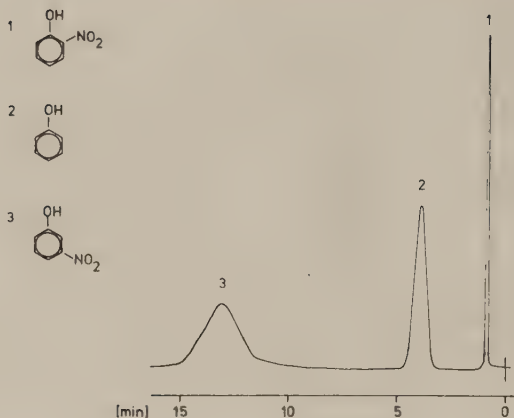


Abb. 28

$N_{\text{eff.}} (\text{Phenol}) = 76$ bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 3,7$

Hier wird die o-Verbindung als Inertsignal eluiert, was auf eine starke intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung schließen läßt. Phenol liegt mit dem k' -Wert von 3,20 weit darüber. m-Nitrophenol wird der mobilen Phase n-Hexan/ CH_3OH (1 %) noch eluiert, jedoch in einer zu langen Analysenzeit.

Eine gute Trennung der Phenolderivate ist auch am Polyamid-12 nicht durchführbar, Abb. 29.

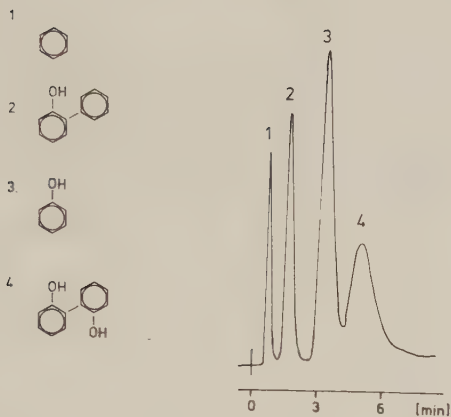


Abb. 29

$N_{\text{eff.}}$ (o-Hydroxy-diphenyl) = 27 bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 1,0$

Abb. 29 zeigt die Peaks dreier Phenole, die aber noch mit anderen Phenolderivaten übereinstimmen. So ist der k' -Wert des o-Hydroxydiphenyls ($k' = 1,15$) gleich dem des 2,3,5-Trimethylphenols und des 2-Methyl-5-isopropylphenols. Das Signal des Phenols fällt mit dem der Monomethyl- und Dimethylphenole, den α - und β -Naphtholen und dem p-Hydroxydiphenyl zusammen, deren Wert jeweils 3,20 beträgt.

Den größten k' -Wert weist das o,o'-Dihydroxydiphenyl auf.

4.2. Diskussion der Ergebnisse

An dieser Stelle sei eine Betrachtung der Chromatographie an den Polyamiden -2, -3, -6 und -12 mit der mobilen Phase n-Hexan/Methanol (1 %) gegeben. Dazu sind die k' -Werte der einzelnen Verbindungen in den Tabellen 1 - 5 zusammengestellt.

k'-Werte : n-Hexan / Methanol (1 %)

	Benzo- chinon	Methyl- Benzo- chinon	Dimethyl- benzo- chinon	Trimethyl- benzo- chinon	Tetramethyl- benzo- chinon	Äthyl- benzo- chinon	Isopropyl- benzo- chinon
PA [*] -2	1,40	0,90	0,90	0,30	0,30	0,80	0,20
PA-3	1,15	0,75	0,44	0,13	0,13	0,54	0,13
PA-6	2,62	1,25	0,50	0,13	0,00	0,75	0,00
PA-12	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabelle 1

*PA bedeutet Polyamid

k' - Werte : n-Hexan / Methanol (1 %)

	p-Naphtho- chinon	o-Naphtho- chinon	Methyl- naphtho- chinon	Anthra- chinon	Methyl- anthra- chinon	1-Hydroxy- anthra- chinon	2-Hydroxy- anthra- chinon	Phenan- thren- chinon
PA-2	0,80	10,80	0,00	0,80	0,00	0,50	16,10	5,30
PA-3	0,75	10,30	0,00	0,13	0,00	0,54	13,40	4,95
PA-6	0,88	* ---	0,50	0,38	0,00	---	---	---
PA-12	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,40	1,50

Tabelle 2

* --- bedeutet: hier konnte keine Elution erreicht werden.

k' - Werte : n-Hexan / Methanol (1 %)

	Anilin	o-Ani- sidin	m-Ani- sidin	p-Ani- sidin	o-To- luidin	m-To- luidin	p-To- luidin	o-Nitro- anilin	m-Nitro- anilin	p-Nitro- anilin
PA-2	3,70	2,10	5,80	7,81	2,20	2,90	2,90	---	---	---
PA-3	3,82	2,08	6,07	8,65	2,38	3,30	3,30	---	---	---
PA-6	4,63	2,75	7,50	---	3,12	3,62	3,62	7,11	---	---
PA-12	1,15	0,63	1,75	3,20	0,00	0,00	0,00	2,50	7,25	---

Tabelle 3

k' - Werte : n-Hexan / Methanol (1 %)

	Phenol	2-Methyl-phenol	3-Methyl-phenol	2,5-Dimethyl-phenol	2,3,5-Tri-methyl-phenol	2-Methyl-5-isopropyl-phenol	o-Hydroxy-diphenyl	p-Hydroxy-diphenyl	o,o'-Dioxydiphenyl
PA-2	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PA-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PA-6	5,62	5,62	5,62	5,62	3,12	3,12	3,12	5,62	---
PA-12	3,20	3,20	3,20	3,20	1,15	1,15	1,15	3,20	5,37

Tabelle 4

k' - Werte : n-Hexan / Methanol (1 %)

	α - Naphthol	β - Naphthol	o - Nitro- phenol	m - Nitro- phenol	p - Nitro- phenol
PA - 2	---	---	---	---	---
PA - 3	---	---	---	---	---
PA - 6	---	---	---	---	---
PA - 12	3, 20	3, 20	0, 00	15, 00	---

Tabelle 5

An der Zusammenstellung der k' -Werte zeigt sich, daß generell bei allen Substanzklassen ein starker Abfall der k' -Werte verzeichnet werden kann, wenn man von der stationären Phase Polyamid-6 zum Polyamid-12 wechselt. Die Erklärung dafür liegt darin begründet, daß beim Polyamid-12 die Konzentration der Peptidbindungen, an denen bei *n*-Hexan/Methanol und auch bei *n*-Hexan/Essigsäure als mobiler Phase die chromatographische Trennung der Substanzen mittels Wasserstoffbrückenbindung stattfindet, im Vergleich zum Polyamid-6 um die Hälfte herabgesetzt ist. Wir haben nun in einem Parallelversuch gezeigt, daß bei einer Verlängerung der Kolonne auf das Doppelte, die mit Polyamid-12 als stationärer Phase gefüllt war, im Vergleich zur einfachen Kolonnenlänge mit Polyamid-6 als Sorbens, die k' -Werte anstiegen und in den meisten Fällen den entsprechenden k' -Werten beim Polyamid-6 ungefähr angeglichen werden. Eine genaue Anpassung ist naturgemäß nie möglich, da einmal bei den chromatographischen Prozessen sterische Einflüsse mitspielen, die bei den einzelnen Polyamiden unterschiedlich stark ausgeprägt sind, zum anderen aber auch durch die Natur der Polyamide, also deren Aufbau, womit unterschiedliche Kristallinität und somit Quellbarkeit verbunden ist, die für die Chromatographie mit verantwortlich sind.

Bei der Chromatographie der alkylsubstituierten Benzochinone ist an allen Polyamiden ein Abfall der k' -Werte vom Benzochinon zum Tetramethylbenzochinon zu verzeichnen. Beim Polyamid-2 ist eine Trennung der Methyl-, Äthyl- und Dimethyl-benzochinone nicht durchführbar, da sie gleiche oder sehr ähnliche (s. Äthylbenzochinon) k' -Werte aufweisen. Beim Polyamid-3 sind die k' -Werte vom Trimethylbenzochinon und Tetramethylbenzochinon identisch, weshalb hier eine Trennung voneinander nicht erreicht werden kann. Eine exakte Trennung dieser Chinone läßt sich am Polyamid-6 erreichen. Beim Polyamid-12 wird nur noch das unsubstituierte Benzochinon retardiert, seine Derivate werden an der Kolonne nicht mehr festgehalten, sondern als Inertsu-

stanzen eluiert. Innerhalb der Reihe vom Polyamid-2 zum Polyamid-6 fallen die k' -Werte zunächst beim Übergang zum Polyamid-3 hin ab. Vom Polyamid-3 zum Polyamid-6 ist wieder ein Anwachsen der k' -Werte zu verzeichnen, jedoch nur bei dem unsubstituierten Benzochinon, dem Methyl- und Äthylbenzochinon. Offensichtlich scheinen hier hauptsächlich sterische Effekte eine Rolle zu spielen, die eine Retention mit zunehmendem Gehalt an Methylgruppen erschweren. Diese sterische Hinderung tritt bei dem Methylchinon und Äthylchinon nicht so stark in Erscheinung. Hier liegen noch relativ hohe k' -Werte vor. Sehr stark wirken die Isopropylgruppe und die vier Methylgruppen im Tetramethylbenzochinon einer Retention entgegen.

Daß ein Anwachsen der k' -Werte des Benzochinons, Methyl- und Äthylbenzochinons beim Übergang zum Polyamid-6 zu verzeichnen ist, liegt in folgendem begründet: Bei den Polyamiden-2 und -3 handelt es sich um substituierte Polyamide. Diese mehr oder weniger sperrigen Substituenten erschweren eine optimale Annäherung der Chinone, vor allem aber der mehrfach substituierten Chinone an das Polyamidgrundgerüst, wie mittels eines Modellbaukastens gezeigt werden konnte; es können sich nicht mehr Wasserstoffbrückenbindungen in der Stärke ausbilden, wie dies bei dem reinen Polyamid-6 der Fall ist. Daraus resultieren geringere k' -Werte.

Bei der Chromatographie der Naphtho- und Anthrachinone sowie deren Derivate treten sehr unterschiedliche Ergebnisse an den einzelnen Polyamiden auf. Beim Vergleich der k' -Werte dieser Substanzen fällt die starke Retention der o-Chinone, also des o-Naphthochinons und des Phenanthrenchinons auf. Die k' -Werte fallen hierbei vom Polyamid-2 zum Polyamid-3 hin nur unwesentlich ab, steigen aber zum Polyamid-6 stark an; diese Chinone können von diesem Polyamid nicht mehr eluiert werden. Auf die Ursache der sehr viel schnelleren Elution, die am Polyamid-12 im Vergleich zum Polyamid-6 auftritt, wurde bereits hinge-

wiesen. Interessant ist die Tatsache, daß sich die k' -Werte des Phenanthrenchinons, verglichen mit dem o-Naphthochinon an allen Polyamiden (an Polyamid-6 werden die beiden Substanzen nicht eluiert und somit entfällt hier ein Vergleich der k' -Werte), um die Hälfte verringern. Die Ursache dafür kann darin gesehen werden, daß das Phenanthrenchinon einen ankondensierten Ring mehr enthält als das Naphthochinon. Dieser zusätzlich ankondensierte Ring bedingt die auf sterische Effekte zurückgehende schwächere Retention des Phenanthrenchinons. Die gleichen Überlegungen können auch für die unsubstituierten p-Chinone angestellt werden, auch hier wird durch den weiteren ankondensierten Ring eine Verringerung der k' -Werte an den einzelnen Polyamiden erreicht, wobei jedoch das Polyamid-2 eine Ausnahme macht, da hieraus gleiche k' -Werte resultieren. Daß die o-Chinone größere k' -Werte aufweisen als die p-Chinone, kann in der besseren Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen begründet liegen.

Die methylsubstituierten Naphtho- und Anthrachinone werden an den Polyamidsystemen nicht retardiert, als einzige Ausnahme tritt am Polyamid-6 Retention des 1-Methylnaphthochinons mit einem k' -Wert von 0,5 auf.

Der Einfluß intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen, die sich in einer Konkurrenz zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken am Carbonamidgerüst der Polyamide äußern, wurde anhand des Hydroxyanthrachinons untersucht. Hierbei zeigte sich, daß der Effekt der intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung überwiegt, es resultieren sehr kleine k' -Werte des 1-Hydroxyanthrachinons. Die sehr hohen k' -Werte des 2-Hydroxyanthrachinons lassen sich aus der Tatsache erklären, daß hier drei Zentren vorhanden sind, von denen Wasserstoffbrückenbindungen zum Polyamid ausgehen können, wo hingegen beim 1-Hydroxyanthrachinon nur noch die restliche Carbonylgruppe dazu in der Lage ist.

Bei der Betrachtung der k' -Werte, die bei der Chromatographie des Phenols und seiner Substitutionsprodukte auftreten, fällt die starke Sorption dieser Verbindungen auf. Die Polyamide-2 und -3 erwiesen sich bei den verwendeten mobilen Phasen als vollkommen ungeeignet, da hieran eine Desorption nicht möglich war. Am Polyamid-6 lassen sich nur zwei Arten von phenolischen Verbindungsklassen trennen.

Ist Phenol mit sperrigen Gruppen, wie z.B. einer Isopropyl- oder drei Methylgruppen substituiert, so werden diese Verbindungen von den einfach oder zweifach methylsubstituierten Phenolen getrennt. Eine vollständige Trennung der isomeren Kresole konnte in keinem Fall erreicht werden. Interessant war die Tatsache, daß von den Hydroxy-biphenylen die o-Verbindung schneller als die p-Verbindung eluiert wird. Durch den Phenylrest in o-Stellung wird sich eine Wasserstoffbrückenbindung sterisch nicht so gut ausbilden können, als wenn das Phenol entsprechend in p-Stellung substituiert ist.

Eine Elution der isomeren Naphthole, des o,o'-Dihydroxy-diphenyl und der Nitrophenole, konnte nicht erreicht werden.

Der k' -Wert der Phenolderivate fällt auch wieder beim Übergang vom Polyamid-6 zum Polyamid-12 hin ab. Hier treten die gleichen chromatographischen Trenneffekte auf wie am Polyamid-6. Nur liegen die k' -Werte um ungefähr zwei Einheiten tiefer. An dieser stationären Phase werden das o,o'-Dihydroxy-diphenyl und die Naphthole eluiert, die jedoch nicht getrennt werden. Das o-Nitrophenol, das an den anderen Polymeren nicht eluiert werden konnte, weist am Polyamid-12 keine Retention auf. Hier liegt offensichtlich eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung als Konkurrenz zur Wasserstoffbrückenbindung zum Polyamid vor. Eine solche Konkurrenz ist abhängig von der Struktur der Polyamide. Bei den Polyamiden -2, -3 und -6 ist eine Wasserstoffbrückenbindung der Hydroxy- und Nitrogruppe zu den entsprechen-

den Carbonamidgruppierungen bevorzugt ausgebildet. Ihre Bindung ist zu stark, so daß sie mit den eingesetzten mobilen Phasen nicht eluiert werden konnten. Als einzige Nitroverbindung konnte das m-Nitrophenol am Polyamid-12 als stationärer Phase mit einem sehr hohen k' -Wert von 15 eluiert werden.

Die allgemeine Ursache der im Vergleich zu den anderen Substanzen wesentlich stärkeren Sorption phenolischer Verbindungen am Polyamid beruht darauf, daß es sich hierbei nicht nur um eine Adsorption an der Oberfläche des Polyamids handelt, sondern daß Phenol und viele seiner Derivate infolge ihres Lösungsvermögens in das Polyamid eindringen, wodurch einmal die vergleichsweise hohen k' -Werte, zum anderen aber auch die große Kapazität des Polyamids erklärt ist.

Versuche, Trennungen von Verbindungen, die mit Hydroxy-Gruppen am aromatischen Ring substituiert sind, zu erzielen, verliefen negativ. Brenzkatechin, Resorcin und auch Hydrochinon wurden an allen Polyamiden so stark retardiert, daß eine Desorption mit den verwendeten mobilen Phasen unmöglich war.

In einer gesonderten Meßreihe wurden die k' -Werte, die am Polyamid-6 und -12 erhalten wurden, vom Benzylalkohol mit denen des Phenols verglichen. Hier fallen die k' -Werte des Benzylalkohols stark ab. Infolge der starken Acidität des Phenols, die durch die Delokalisierung der π -Elektronendichte des Sauerstoffs der OH-Gruppe bedingt ist, ist eine starke Wasserstoffbrückenbindung zum Polyamid, das hier als Wasserstoffacceptor fungiert, ausgebildet. Beim Benzylalkohol ist eine solche Delokalisierung nicht mehr möglich, so daß hier die k' -Werte abfallen.

Je stärker die π -Elektronen von der OH-Gruppe weggezogen werden, desto größere k' -Werte resultieren,

Beim Anilin und dessen Derivaten haben wir maximale k' -Werte am

Polyamid-6. Die k' -Werte, die am Polyamid-2 und -3 auftreten, unterscheiden sich nur unwesentlich. Auch hier ist wieder ein starker Abfall der k' -Werte beim Übergang zum Polyamid-12 zu verzeichnen.

Bei den isomeren Anisidinen wird jeweils die p-Verbindung am stärksten retardiert; so wird am Polyamid-6 als stationärer Phase schon keine Elution dieser Verbindung mehr registriert. Wasserstoffbrückenbindungen, die von der Aminogruppe des Anisidins ausgehen, können, wenn auch nicht in dem Maße, auch noch zusätzlich von der Methoxygruppe gebildet werden. Am stärksten scheinen diese Brückenbindungen von der p-Verbindung auszugehen. Daß das o-Anisidin geringere k' -Werte aufweist als das unsubstituierte Anilin, kann in einer möglichen intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung begründet liegen. Sehr wahrscheinlich werden aber auch hier sterische Effekte, die eine mehr oder weniger starke Bindung an das Polyamidgerüst bewirken, eine wesentliche Rolle mitspielen.

Bei den Toluidinen werden die k' -Werte in allen Fällen im Vergleich zum Anilin durch die Methylgruppe erniedrigt. Eine Trennung der m- von der p-Verbindung konnte in keinem Fall erreicht werden, auch ließ sich das o-Toluidin vom m- und p-Toluidin nur ungenügend trennen.

Eine Elution der Nitroaniline gelang nur an den Polyamiden -6 und -12 und auch hier nur unvollkommen. So wurde am Polyamid-6 nur die o-Verbindung, am Polyamid-12 das o- und m-Nitroanilin desorbiert. Bei dem o-Anisidin lagen die k' -Werte jeweils über denen des reinen Anilins. Hier scheinen keine intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen aufzutreten, da sonst die k' -Werte unter denen des Anilins liegen müßten. Die sehr starke Retention der Nitroaniline spricht für eine Wasserstoffbrückenbindung, die sowohl von der Amino- als auch von der Nitrogruppe ausgeht.

4.3. Mobile Phase: n-Hexan/Essigsäure (1 %)

4.3.1. Stationäre Phase: LiChrosorb SI 100, belegt mit 10 % Polyamid-2
(Poly- γ -methyl-L-glutamat)

Teilchengröße: 25-32 μm

Volumengeschwindigkeit: $F = 1,9 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_0 = 60 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 43 \text{ atm}$

Die Abbildungen 30 bis 32 zeigen die Chromatogramme der Chinonderivate.

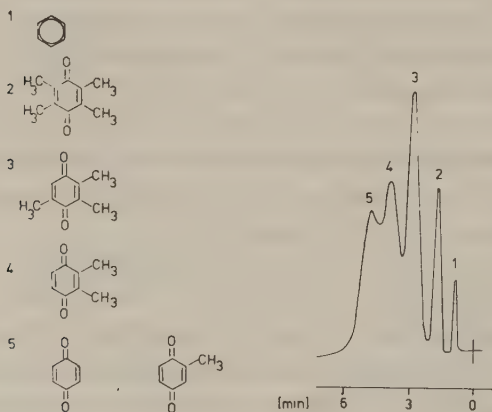


Abb. 30

$N_{\text{eff.}}$ (Trimethylbenzochinon) = 43 bei $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

$R_{4,5} = 0,75$

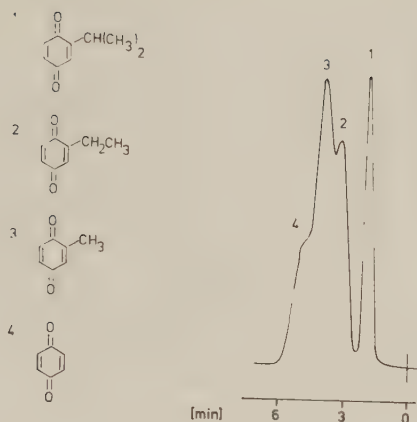


Abb. 31

$N_{\text{eff.}}$ (Isopropylbenzochinon) = 25 bei $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,62$

Die Auflösung zeigt, daß an diesem Polyamid eine gute Trennung aller alkylsubstituierten Chinone nicht möglich ist.

Bei den Naphtho- und Anthrachinonen lassen sich bei Hexan/Essigsäure Trennungen der methylierten Derivate erzielen. Dies konnte am System Hexan/Methanol nicht erreicht werden. So konnten hier das 1.4-Dimethyl-anthrachinon vom 1-Methyl-anthrachinon, das dem Signal des unsubstituierten Anthrachinons entspricht, getrennt werden, wie das Chromatogramm Abb. 32 zeigt. Auch lassen sich hier Trennungen des 1-Methyl-naphthochinon (es entspricht ebenfalls des Signals 2) vom reinen Naphthochinon durchführen.

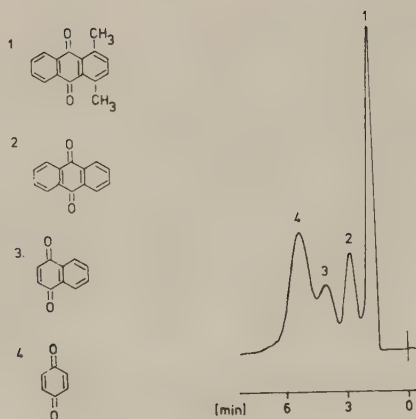


Abb. 32

$N_{\text{eff.}}$ (Benzochinon) = 43 bei $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 0,57$

Phenol und Anilinderivate wurden von der verwendeten mobilen Phase nicht eluiert. Es wurde versucht, durch Erhöhung der Konzentration der Essigsäure eine Desorption der Phenolderivate an dieser stationären Phase zu erhalten.

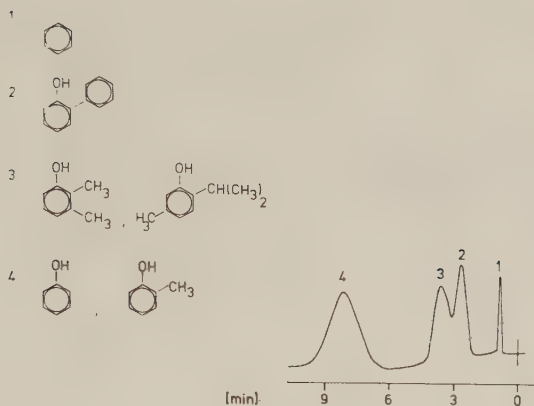


Abb. 33

$N_{\text{eff.}} (\text{Phenol}) = 90$ bei $u = 1,01 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,86$

Die Konzentration der Essigsäure betrug 4 %; Trennungen werden jedoch hierbei nur von den Phenolderivaten erhalten, die sich hinsichtlich der Sperrigkeit der Substituenten sehr stark voneinander unterscheiden.

4.3.2. Stationäre Phase: LiChrosorb SI 100, belegt mit 10 %
Polyamid-3 (Poly-4-methyl-azetidinon-2)
Teilchengröße 25-32 μm

Volumengeschwindigkeit: $F = 1,8 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_0 = 58,5 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 46 \text{ atm}$

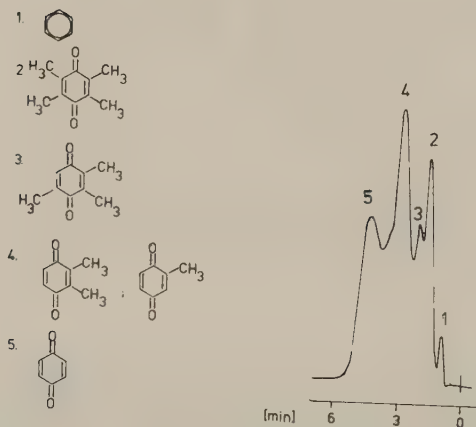


Abb. 34

$N_{\text{eff.}}$ (Dimethyl-benzochinon) ≈ 44 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,67$

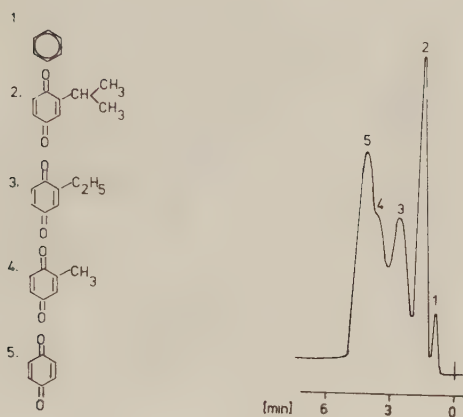


Abb. 35

$N_{\text{eff.}}$ (Benzochinon) = 62 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{3,5} = 1,17$

Eine hinreichend gute Trennung der Naphtho- von den Anthra-
chinonen sowie deren Methyl- und Dimethylderivaten ließ sich
nicht durchführen.

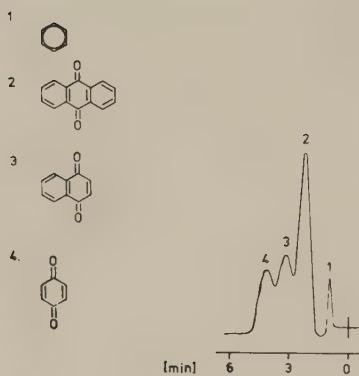


Abb. 36

$N_{\text{eff.}}$ (Anthrachinon) = 22 bei $u = 0,96 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 0,65$

Phenol- und Anilinderivate konnten an diesem System nicht eluiert werden.

4.3.3. Stationäre Phase: LiChrosorb SI 100 belegt mit 10 %
Polyamid-6
Teilchengröße: 25-32 μm

Volumengeschwindigkeit: $F = 2,1 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_0 = 48 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 54 \text{ atm}$

An diesem System tritt eine brauchbare Trennung der alkylierten Benzo-
chinone auf.

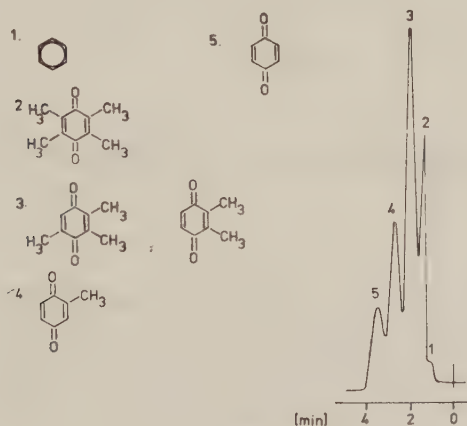


Abb. 37

$N_{\text{eff.}}$ (Methyl-benzochinon) = 64 bei $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 0,59$

Allerdings wird die Dimethyl- von der Trimethylverbindung nicht
getrennt.

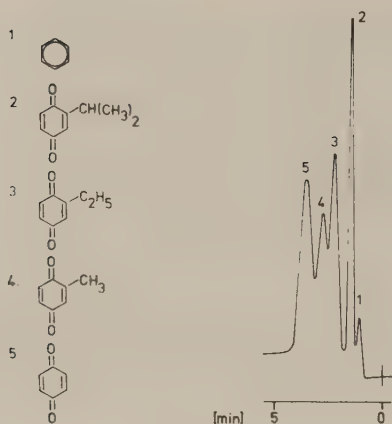


Abb. 38

$N_{\text{eff.}}$ (Benzochinon) = 88 bei $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{3,4} = 0,59$

Bei dem Äthylbenzochinon macht sich, verglichen mit der Methylverbindung, der Einfluß der Kettenlänge auf die Trennung nur gering bemerkbar. Die Auflösung von 0,59 macht deutlich, daß diese beiden Substanzen als nicht getrennt angesehen werden müssen.

Von den Naphtho- und Anthrachinonen sowie deren Substitutionsprodukten konnte nur das Dimethyl-anthrachinon von allen anderen getrennt werden, deren k' -Werte dem des unsubstituierten Anthrachinons identisch sind.

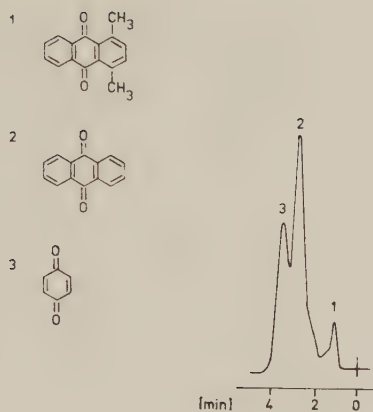


Abb. 39

$N_{\text{eff.}}$ (Anthrachinon) = 64 bei $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{2,3} = 0,90$

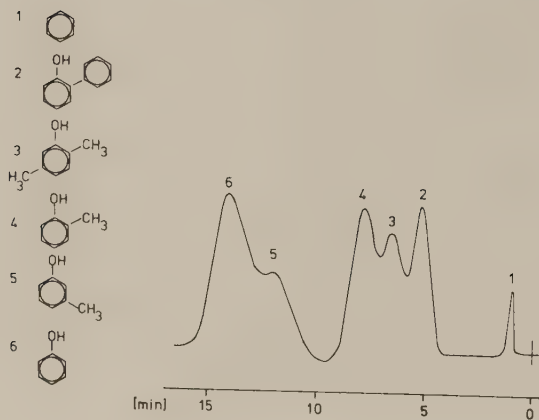


Abb. 40

$N_{\text{eff.}} (\text{Phenol}) = 168$ bei $u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{5,6} = 0,62$

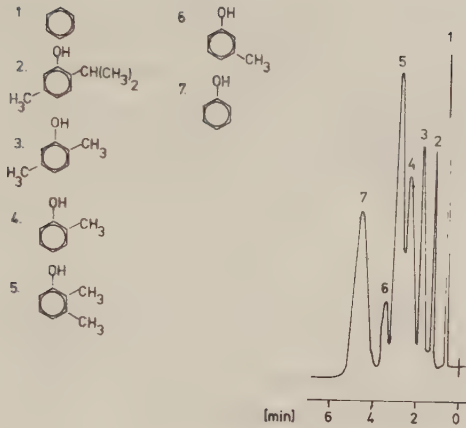


Abb. 41

$N_{\text{eff.}} \text{ (o-Xylenol) } = 200 \text{ bei } u = 1,12 \text{ cm/sec}$

$R_{4,5} = 0,67$

Aus den beiden Chromatogrammen wird der Einfluß der mobilen Phase auf die Trennleistung an diesem System sehr deutlich. Abb. 40 zeigt die Trennung, bei der der Zusatz an Essigsäure 1 % betrug, und in Abb. 41 betrug er 4 %. Die Analyse wird nicht nur in einer wesentlich kürzeren Zeit (5 min im letzteren Fall im Vergleich zu 15 min im ersten Versuch bezogen auf Phenol) durchgeführt, sondern es werden auch sehr viel bessere Trennergebnisse erreicht.

4.3.4. Stationäre Phase: Merckogel SI 500 belegt mit 10 %

Polyamid-12

Teilchengröße: 40-50 μm

Volumengeschwindigkeit: $F = 2,0 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_0 = 48 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 20 \text{ atm}$

An diesem System traten keine Retentionen der alkylsubstituierten Benzo-
chinone, Anthrachinone sowie der p-Naphthochinone auf. Am Polyamid-12
konnte erstmals jedoch eine Elution der o-Chinone, nämlich des o-Naphtho-
chinons und Phenanthrenchinons erreicht werden.

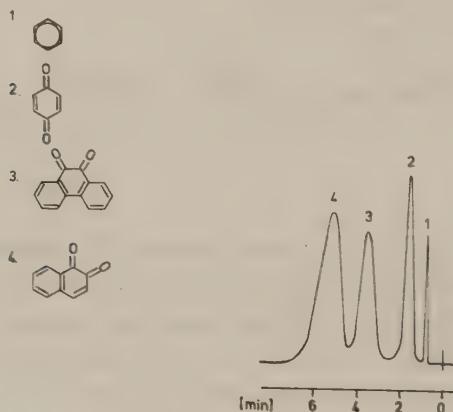


Abb. 42

$N_{\text{eff.}}$ (o-Naphthochinon) = 87 bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{4,3} = 1,3$

Abb. 43 gibt die Trennung des Phenols und einige seiner Derivate wieder. In diesem Chromatogramm sind aber einige Signale mit mehreren Substanzen gleichzusetzen. So entspricht z. B. dem k' -Wert des 2-Iso-propyl-phenols der des 2-Methyl-5-isopropyl-phenols und des 2.3.5-Trimethyl-phenols. Phenol ist identisch mit den k' -Werten der Kresole, des 2.5-Dimethyl-phenols, des p-Hydroxy-diphenyls und der α - und β -Naphthole.

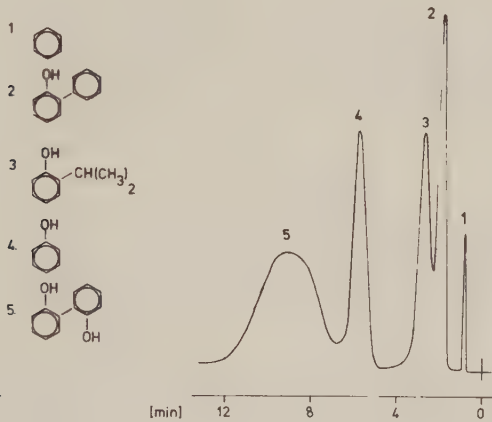


Abb. 43

$$N_{\text{eff.}} (\text{Phenol}) = 330 \text{ bei } u = 1,06 \text{ cm/sec}$$

$$R_{2,3} = 0,89$$

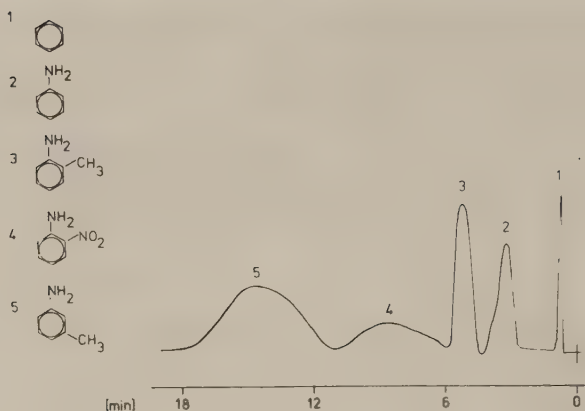


Abb. 44

$N_{\text{eff.}}$ (o-Toluidin) = 183 bei $u = 1,06 \text{ cm/sec}$

$R_{4,5} = 0,86$

Polyamid-12 ist die einzige stationäre Phase, an der eine Elution einiger Anilinderivate auftritt. So konnte das o-Toluidin von der m-Verbindung getrennt werden. Ebenfalls ließ sich die o-Nitroverbindung eluieren.

4.4. Diskussion der Ergebnisse

Die k' -Werte, die an den Polyamiden -2, -3, -6 und -12 als stationäre Phasen und n-Hexan/Essigsäure (1 %) als mobiler Phase resultieren, sind nachfolgend tabellarisch aufgeführt (S. 78-82).

Bei der Diskussion der k' -Werte des Benzochinons und seiner alkylsubstituierten Derivate ist allgemein zu sagen, daß die Stärke der Retention vom Polyamid-2 zum Polyamid-12 hin abnimmt. Innerhalb der einzelnen Polyamide hat das unsubstituierte Benzochinon jeweils den größten k' -Wert, der mit zunehmender Anzahl von Methylgruppen abnimmt. Am Polyamid-12 tritt, mit Ausnahme des Benzochinons, keine Retention auf.

Polyamid-6 erwies sich bei n-Hexan/Essigsäure als Trägermaterial zur Trennung der p-Naphtho- und Anthrachinone sowie deren Derivate als vollkommen unbrauchbar, da diese Substanzen nicht voneinander getrennt werden bzw. nicht eluiert werden konnten. Ähnliche Ergebnisse wurden an den Polyamiden-2 und -3 erhalten. Hier lassen sich zwar die p-Naphthochinone von den Anthrachinonen und ihren jeweiligen Methylderivaten trennen, nicht jedoch die Methylverbindungen vom unsubstituierten p-Naphthochinon und entsprechend die vom Anthrachinon. Von den Hydroxy-anthrachinonen ist mit Ausnahme des 1-Hydroxy-anthrachinons, das als Inertpeak beim Polyamid-12 erscheint, keine Verbindung eluierbar. Allein an diesem Polyamid ist eine Trennung der o-Chinone, des o-Naphthochinons und Phenantrenchinons, durchführbar.

Bei Verwendung von n-Hexan/Essigsäure als mobiler Phase sind die Polyamide als Sorptionsmittel zur Chromatographie von Anilin, Anisidin, Toluidin und Nitroanilinen vollkommen unbrauchbar. Am Polyamid-12 lassen sich zwar das o-Toluidin vom m-Toluidin trennen, jedoch hat das m-Toluidin einen viel zu hohen k' -Wert. Beim o-Nitroanilin, dessen k' -Wert von 9,75 wesentlich höher liegt als der des Anilins

k' - Werte : n-Hexan / Essigsäure (1%)

	Benzo- chinon	Methyl- Benzo- chinon	Dimethyl- Benzo- chinon	Trimethyl- Benzo- chinon	Tetramethyl- Benzo- chinon	Äthyl- Benzo- chinon	Iso- propyl- Benzo- chinon
PA-2	3,90	2,90	2,90	1,80	0,70	2,20	1,00
PA-3	3,62	2,18	2,18	1,36	0,68	1,77	0,68
PA-6	3,50	2,50	1,75	1,75	0,88	1,88	1,00
PA-12	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabelle 6

k' - Werte : n-Hexan / Essigsäure (1 %)

	p-Naphtho- chinon	o-Naphtho- chinon	Methyl- naphtho- chinon	Anthra- chinon	Methyl- anthra- chinon	1-Hy- droxy- anthra- chinon	2-Hy- droxy- anthra- chinon	Phenan- thren- chinon
PA-2	2,90	---	1,70	1,70	1,70	---	---	---
PA-3	2,38	---	2,38	1,46	1,46	---	---	---
PA-6	2,50	---	2,50	2,50	2,50	---	---	---
PA-12	0,00	5,50	0,00	0,00	0,00	0,00	---	3,50

Tabelle 7

k' - Werte : n-Hexan / Essigsäure (1 %)

	Anilin	o-Ani- sidin	m-Ani- sidin	p-Ani- sidin	o-Tolui- din	m-Tolui- din	p-Tolui- din	o-Nitro- anilin	m-Nitro- anilin	p-Nitro- anilin
PA-2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PA-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PA-6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PA-12	3,0	---	---	---	5,50	17,65	---	9,75	---	---

Tabelle 8

k' - Werte : n-Hexan / Essigsäure (1 %)

	Phenol	2-Methyl- phenol	3-Methyl- phenol	2,5-Dimethyl- phenol	2,3,5-Trimethyl- phenol	2-Methyl- 5-isopropyl- phenol	o-Hydroxy- diphenyl	p-Hydroxy- diphenyl	o, o'-Dioxy- diphenyl
PA-2	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PA-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PA-6	16,50	8,90	14,50	7,25	5,50	5,50	5,50	---	---
PA-12	6,25	6,25	6,25	6,25	2,38	2,38	1,39	6,25	9,90

Tabelle 9

k' - Werte : n-Hexan / Essigsäure (1 %)

	α -Naphthol	β -Naphthol	o-Nitro-phenol	m-Nitro-phenol	p-Nitro-phenol
PA-2	---	---	---	---	---
PA-3	---	---	---	---	---
PA-6	---	---	---	---	---
PA-12	6, 25	6, 25	---	---	---

Tabelle 10

(k' -Wert = 3,00), werden sowohl von der Amino- als auch von der Nitrogruppe Bindungen zur Peptidgruppierung des Polyamids ausgehen, da andererseits, wenn intramolekulare Wasserstoffbindungen im o-Nitroanilin auftreten würden, der k' -Wert unter dem des Anilins liegen müßte. Als einigermaßen geeignete Trennphasen für die Chromatographie von Phenol und seinen Derivaten können Polyamid-6 und -12 eingesetzt werden. Aus der Auflösung (s. Abb. 40) ist jedoch zu entnehmen, daß die Trennleistung nicht zufriedenstellend ist. Auch entsprechen den einzelnen Signalen mehrere Substanzen, deren k' -Werte sich nur geringfügig unterscheiden. Wir haben in einem Parallelversuch im Polyamid-6 durch Variation der mobilen Phase (der Anteil der Essigsäure wurde auf 4 % erhöht) und geringfügige Vergrößerung der Volumengeschwindigkeit bzw. linearen Geschwindigkeit ein chromatographisches System erhalten, an dem eine brauchbare Trennung vorgenommen werden konnte (s. Abb. 41).

Eine Desorption der Nitrophenole konnte jedoch auch hier nicht erreicht werden.

Beim Vergleich der Trennergebnisse, die an den beiden mobilen Phasensystemen n -Hexan/Methanol und n -Hexan/Essigsäure auftreten, fallen die sehr viel größeren k' -Werte auf, die an letzterem System resultieren, obwohl sich Essigsäure hinsichtlich seiner größeren Polarität vom Methanol stark unterscheidet.

Dieses Verhalten entspricht der elutropen Reihe, wenn Wasserstoffbindungen die Sorption vermitteln. Sie lautet:

Essigsäure < Wasser < Methanol < Aceton < Formamid

Dimethylformamid < Pyridin < Natronlauge

Mit steigender Basizität nimmt die Elutionskraft zu.

Eine bedeutende Rolle spielen hierbei die Protonen-Donator- und Protonen-Akzeptor-Eigenschaften der mobilen Phase. Lösungsmittel, die Protonen-Donator-Eigenschaften aufweisen (Säuren, Alkohole) konkur-

rieren mit Probesubstanzen, die ebenfalls aktive Wasserstoffatome (z.B. Phenole) besitzen, um die Bindung am Polyamid. Hingegen gehen Lösungsmittel mit ausgeprägten Protonen-Akzeptor -Eigenschaften selbst starke Wasserstoffbindungen mit den Wasserstoffatomen der Probesubstanzen ein und beschleunigen so eine Desorption dieser Stoffe.

4.5. Polyamid-12 als stationäre Phase in der "Reversed-Phase" Chromatographie

In der Literatur werden Trägermaterialien beschrieben, bei denen an einer porösen Schicht auf einem kugelförmigen, festen, unporösen Kern über Si-C-Bindungen langkettige, aliphatische Kohlenwasserstoffreste, z.B. Octadecylreste, chemisch gebunden sind. Diese an der Oberfläche gebundenen Reste treten in Wechselwirkung mit den zu trennenden Molekülen. Als mobile Phase für die Reversed-Phase-Chromatographie wird eine Mischung von Wasser mit einem hierin löslichen, organischen Lösungsmittel verwendet.

Uns interessierte nun, ob Polyamid-12, das ja 11 Methylengruppen zwischen den einzelnen Carbonamidgruppierungen hat, als stationäre Phase für die "Reversed-Phase"- Technik eingesetzt werden kann.

Die aufgestellten Meßreihen wurden an der gleichen Kolonne mit Polyamid-12 als stationärer Phase durchgeführt, die auch bei der Chromatographie mit n-Hexan/Methanol bzw. n-Hexan/Essigsäure Verwendung fand.

Als zu analysierende Verbindungen wurden Chinone und Phenole eingesetzt.

4.5.1. Mobile Phase: Wasser

Volumengeschwindigkeit: $F = 0,79 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_o = 120 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 75 \text{ atm}$

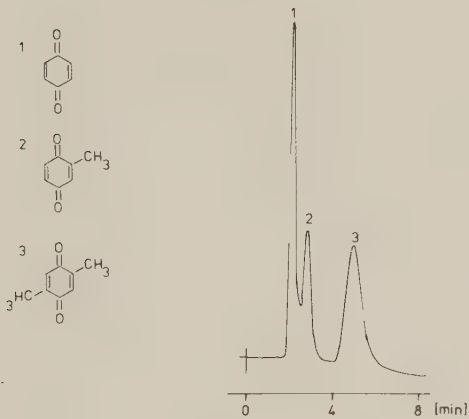


Abb. 45

$N_{\text{eff.}}$ (Dimethyl-benzochinon) = 100 bei $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,80$

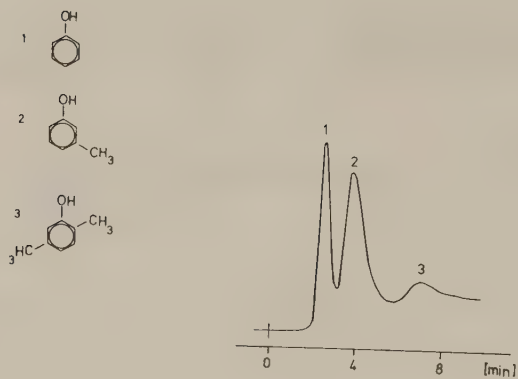


Abb. 46

$N_{\text{eff.}} \text{ (m-Kresol) } = 30 \text{ bei } u = 0,42 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,24$

4.5.2. Mobile Phase: Wasser/Dioxan (5 %)

Volumengeschwindigkeit: $F = 1,1 \text{ ml/sec}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 0,59 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_0 = 86,5 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 62 \text{ atm}$

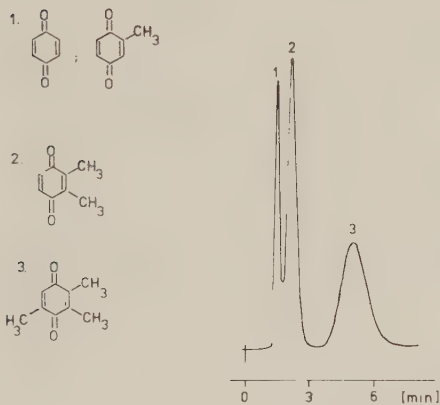


Abb. 47

$N_{\text{eff.}}$ (Trimethyl-benzochinon) = 44 bei $u = 0,59 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,86$

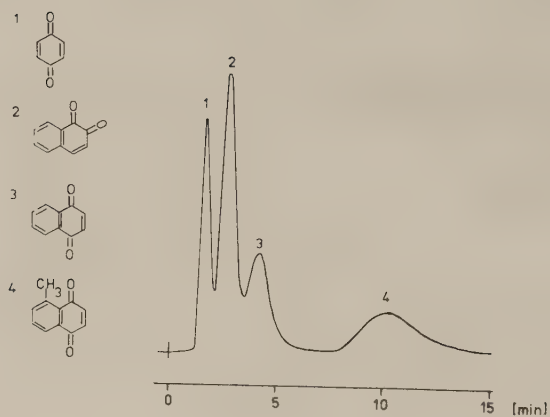


Abb. 48

$N_{\text{eff.}}$ (1-Methyl-naphthochinon-1.4) = 49 bei $u = 0,59 \text{ cm/sec}$
 $R_{1,2} = 1,00$

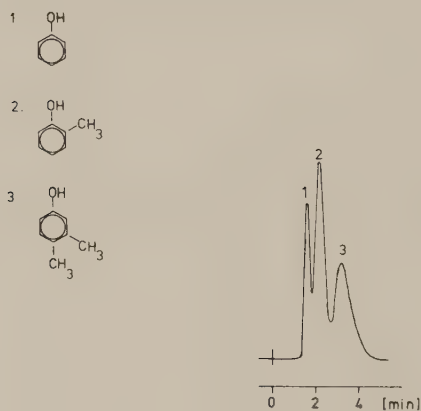


Abb. 49

$N_{\text{eff.}}$ (3,4-Dimethyl-phenol) = 40 bei $u = 0,59 \text{ cm/sec}$
 $R_{1,2} = 0,9$

4.5.3. Mobile Phase: Wasser/Acetonitril (10 %)

Volumengeschwindigkeit: $F = 1,1 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 0,59 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_o = 86,5 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 60 \text{ atm}$

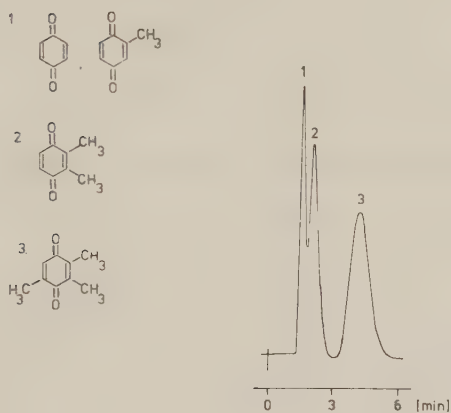


Abb. 50

$N_{\text{eff.}}$ (Trimethyl-benzochinon) = 59 bei $u = 0,59 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,91$

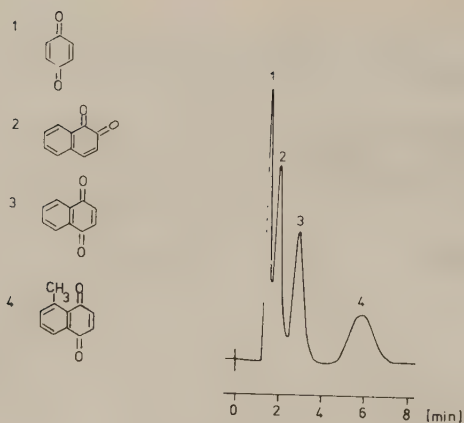


Abb. 51

$N_{\text{eff.}}$ (1-Methyl-naphthochinon-1.4) = 59 bei $u = 0,59 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,80$

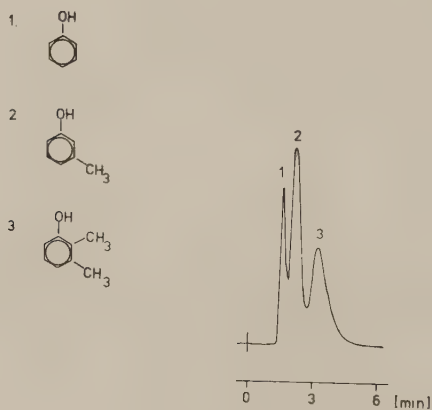


Abb. 52

$N_{\text{eff.}}$ (2.3-Dimethyl-phenol) = 26 bei $u = 0,59 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,94$

4.5.4. Mobile Phase: Wasser/Dioxan (12,5 %)

Volumengeschwindigkeit: $F = 0,79 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_o = 120 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 80 \text{ atm}$

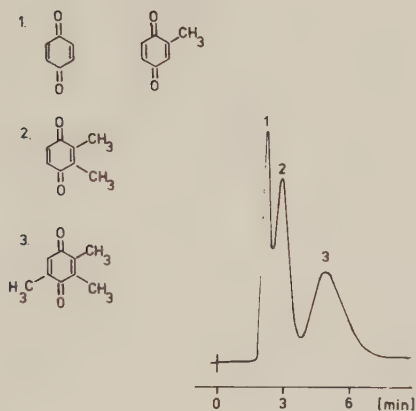


Abb. 53

$N_{\text{eff.}}$ (Trimethyl-benzochinon) = 19 bei $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 1,00$

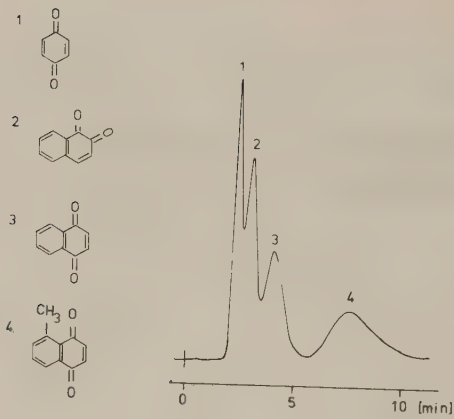


Abb. 54

$N_{\text{eff.}}$ (Naphthochinon-1.4) = 46 bei $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,86$

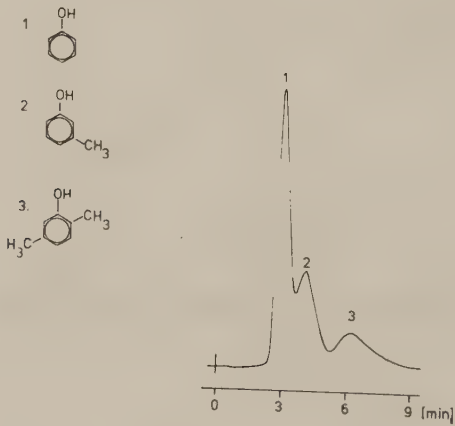


Abb. 55

$N_{\text{eff.}}$ (2.5-Trimethyl-phenol) = 27 bei $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

$R_{1,2} = 0,74$

4.5.5. Mobile Phase:

Wasser/Dioxan (25 %)

Volumengeschwindigkeit: $F = 0,79 \text{ ml/min}$

Lineare Geschwindigkeit: $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

Totzeit: $t_o = 120 \text{ sec}$

Druckabfall: $\Delta p = 92 \text{ atm}$

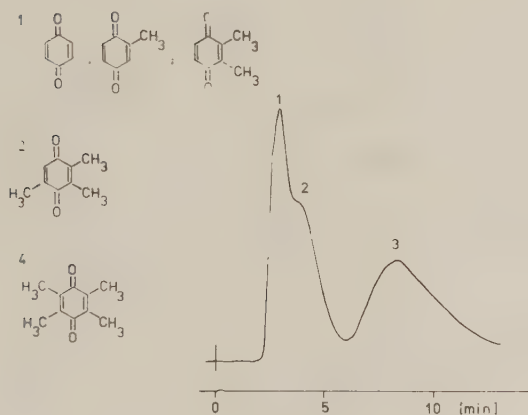


Abb. 56

$N_{\text{eff.}}$ (Tetramethyl-benzochinon) = 13 bei $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

$R_{1,3} = 1,25$

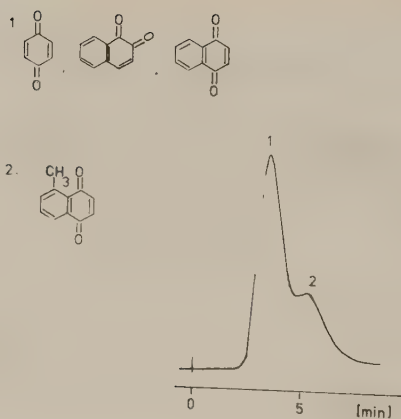


Abb. 57

$N_{\text{eff.}}$ (Benzochinon) = 5 bei $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

keine Auflösung!

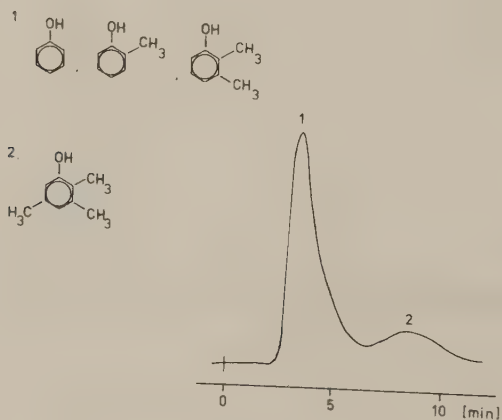


Abb. 58

$N_{\text{eff.}}$ (Phenol) = 9 bei $u = 0,42 \text{ cm/sec}$

keine Auflösung!

k' - Werte : PA-12 (Reversed - Phase)

	Benzo- chinon	Methyl- benzo- chinon	Dimethyl- benzo- chinon	Tri- methyl- benzo- chinon	Tetra- methyl- benzo- chinon	p- Naphtho- chinon	o- Naphtho- chinon	1-Methyl- Naphtho- chinon
H ₂ O / Dioxan (5%)	0,04	0,04	0,46	2,54	---	1,92	0,81	6,06
H ₂ O / Dioxan (12,5%)	0,10	0,10	0,50	1,50	---	1,45	0,40	2,84
H ₂ O / Dioxan (25%)	0,45	0,45	0,45	0,45	3,10	0,60	0,60	1,60
H ₂ O / CH ₃ CN (10%)	0,04	0,04	0,39	1,92	---	0,96	0,32	2,96
H ₂ O	0,10	0,40	1,50	---	---	---	---	---

Tabelle 11

k' - Werte : PA-12 (Reversed-Phase)

	Phenol	2-Methyl- phenol	3.4-Dimethyl- phenol	2.3.5- Trimethyl- phenol
H ₂ O / Dioxan (5 %)	0,18	0,60	1,43	---
H ₂ O / Dioxan (12,5 %)	0,50	1,10	2,15	---
H ₂ O / Dioxan (25 %)	0,75	0,75	0,75	3,20
H ₂ O	0,25	0,40	2,55	---

Tabelle 12

4.6. Diskussion der Ergebnisse

Der chemische Mechanismus, der der "Reversed-Phase"-Chromatographie zugrunde liegt, ist die Anziehung zwischen den Kohlenwasserstoffen der Probemoleküle und den gebundenen Methylengruppen des Trägermaterials durch Van der Waals'sche Kräfte. Je mehr die Probemoleküle Kohlenwasserstoffen ähneln, desto stärker werden sie angezogen. Dieser Unterschied in der chemischen Struktur der Moleküle ist es, der zu einer stärkeren oder schwächeren Auflösung in der stationären Phase und damit zu einer Trennung führt. Der vorherrschende Trennmechanismus scheint die Verteilungschromatographie zu sein, es ist jedoch auch nicht die Adsorption bzw. Wasserstoffbrückenbindung auszuschließen.

Bei unseren Messungen zeigte sich, daß das Tetramethyl-benzochinon und das 2-, 3-, 5-Trimethyl-phenol nur vom System Wasser/Dioxan (25 %) eluiert wird. Allgemein gilt, daß mit abnehmender Polarität der Probemoleküle bzw. zunehmender Ähnlichkeit Kohlenwasserstoffen gegenüber ebenfalls der Anteil der mobilen organischen Phase im System zunehmen muß, um Elutionen zu erzielen.

So fallen die k' -Werte, die in den Tabellen 10 und 11 zusammengestellt sind, des Trimethyl-benzochinons beispielsweise bei einem Gehalt von 5- bis 25 % an Dioxan in der mobilen Phase von 2,54 auf 0,45. Gleiches gilt bei den o- und p-Naphthochinonen. Auch hier verkürzen sich die Retentionszeiten bzw. die k' -Werte beim Übergang zur mobilen Phase mit einem größeren Gehalt an organischem Anteil. Die relative Größe der k' -Werte des 1-Methyl-naphthochinons zum Naphthochinon-1,4 und Naphthochinon-1,2 ändern sich mit der Zusammensetzung der mobilen Phase sehr stark. So beträgt die Differenz der k' -Werte vom 1-Methyl-naphthochinon zum Naphthochinon-1,2 bei Wasser/Dioxan (5 %) ca. 5,2, bei einem Gehalt an Dioxan von 25 % nur noch 1,0. (Wie in Abb. 57 gezeigt, ist aber bei dieser Differenz keine Trennung mehr möglich). Die o-Verbindung unterscheidet sich vom p-Naphthochinon bei der mobilen Phase

Wasser/Dioxan (5 %) im Massenverteilungsverhältnis nur eine Einheit. Bei einer Zusammensetzung von 25 % Dioxan im Eluenten fallen die k' -Werte zusammen; beide Substanzen können nicht mehr voneinander getrennt werden.

In einer weiteren Meßreihe wurde der Bestandteil der organischen Phase verändert. Statt Dioxan wurde Acetonitril eingesetzt. Da ein Vergleich bei-der Substanzen miteinander angestrebt wurde, mußte auch die Zusammen-
setzung der mobilen Phase verändert werden, da die Polaritäten von Dioxan (0,56) und Acetonitril (0,65) betragen. Die resultierenden Chromato-
gramme, die bei den mobilen Phasen Wasser/Dioxan (12,5 %) und Wasser/
Acetonitril (10 %) aufgenommen wurden, unterscheiden sich jedoch nur
geringfügig.

Die k' -Werte des Benzochinons und die der Mono- und Dimethylverbindung lassen sich mit Hilfe der "Reversed-Phase"- Technik nicht erklären. Statt
geringerer Retentionszeiten beim Übergang der mobilen Phase zu einer
mit einem größeren Gehalt an organischer Komponente treten größere
 k' -Werte auf. Ähnliches gilt für Phenol, Kresol und Xylenol. (An dieser
Stelle sei nachzutragen, daß auch hier eine Trennung der isomeren Dimethyl-
benzochinone und isomeren mono- und dimethylsubstituierten Phenole mit
Hilfe der Phaseninversion nicht möglich war). Eine Erklärung dafür, daß
sich die k' -Werte dieser Verbindungen nicht mittels des Reaktionsmecha-
nismus der Reversed-Phase -Chromatographie erklären lassen, kann darin
gesehen werden, daß diese Chinone und Phenole wasserlöslich sind. Ver-
bindungen, die über den Phaseninversionsmechanismus getrennt werden
sollen, sind jedoch gewöhnlich wasserunlöslich. Hier scheinen mehrere
Mechanismen miteinander zu konkurrieren, so daß eine eindeutige Zuord-
nung nicht gegeben werden kann.

5. Symbolverzeichnis

F	Fluß, Volumengeschwindigkeit
h	Bodenhöhe
H_{eff}	effektive Bodenhöhe
k	Verteilungskoeffizient
k'	Massenverteilungsverhältnis
L	Säulenlänge
n	Bodenzahl
N_{eff}	effektive Bodenzahl
p	Druck
q	freier Querschnitt der Trennsäule
R	Auflösung
t_R	Retentionszeit
t_o	Totzeit
t'_R	Nettoretentionszeit
u	lineare Geschwindigkeit
V_M	Volumen der mobilen Phase in der Säule
V_N	Nettoretentionsvolumen
V_R	Gesamtretentionsvolumen
V_S	Volumen der stationären Phase
w	Basisbreite eines Peaks
α	relative Retention
σ	Standardabweichung

6. Literaturverzeichnis

1. M.S. Tswett, Ber. dtsch. bot. Ges. 24, 316, 324 (1906)
2. J.F.K. Huber, Analytic. Chim. Acta 38, 305 (1967)
3. J.J. Kirkland, Analytic. Chem. 41, 218 (1969)
4. J.J. Kirkland, J. Chromatog. Sci. 7, 361 (1969)
5. J.J. Kirkland, J. Chromatog. Sci. 8, 72 (1970)
6. L.R. Snyder, Analytic. Chem. 39, 698, 705 (1967)
7. L.R. Snyder, J. Chromatog. 36, 455, 476 (1968)
8. L.R. Snyder, J. Chromatog. Sci. 7, 352, 595 (1969)
9. L.R. Snyder, J. Chromatog. Sci. 8, 692 (1970)
10. J. Hálász, H.O. Gerlach, A. Kroneisen u. P. Walking, Z. Anal. Chem. 234, 97 (1969)
11. J. Halász u. P. Walking, Ber. Bunsenges. physik. Chem. 74, 66 (1970)
12. G. Deininger, J. Halász, im "Advances in Chromatography 1970", A. Hatkis ed., University of Houston, Tex. (1970)
13. G. Deininger u. J. Hálász, J. Chromatog. Sci. 8, 499 (1970)
14. A.J.M. Keulemans, Gas Chromatographie, Verlag Chemie (1959)
15. E. Heftmann, ed. Chromatography, 2nd Ed. Reinhold, New York (1967)
16. A.J.P. Martin, R.L.M. Synge, Biochem. J. 50, 679 (1952)
17. J. Halász, J. Gas Chromatog. 4, 8 (1966)
18. W.T. Astbury, Kolloid Z. 69, 340 (1934)

19. M.L. Huggins, J. Chem. Phys. 8, 598 (1940)
20. Y.T. Lin, K.T. Wang, T.J. Yang, J. Chromatog. 20, 610 (1965)
21. K.T. Wang, I.S.Y. Wang, J. Chromatog. 27, 318 (1967)
22. J.T. Huang, H.C. Hsin, K.T. Wang, J. Chromatog. 29, 391 (1967)
23. K.T. Wang, K.J. Chen, B. Weinstein, J. Chromatog. 32, 592 (1967)
24. K.T. Wang, P.H. Wu, J. Chromatog. 38, 153 (1968)
25. V. Carelli, A.M. Liquori, A. Mell, Nature (London) 176, 70 (1955)
26. H. Endress, H. Hörmann, Angew. Chem., Int.Ed. Engl. 2, 254 (1963)
27. J. Grafe, H. Engelhardt, Chromatographie 5, 307 (1972)
28. A. Verweij, J. Chromatog. 24, 473 (1966)
29. J.P. Marais, J. Chromatog. 27, 321 (1967)
30. R.J.T. Graham, J. Chromatog. 33, 118 (1968)
31. B. Wortmann, H. Wortmann, J.C. Touchstone, J. Chromatog. 70, 199 (1972)
32. I.D. Railton, J. Chromatog. 70, 202 (1972)
33. L. Hörhammer u. H. Wagner, Pharm. Ztg. 104, 783 (1959)
34. H. Endress, W. Grassmann u. M. Oppelt, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 317, 21 (1959)
35. H. Endress, Z. Anal. Chem. 181, 331 (1961)
36. K. Egger u. M. Keil, Z. Anal. Chem. 210, 201 (1965)
37. J.W. Coprius - Peereboom, Nature (London) 204, 748 (1964)

38. J.W. Coprius - Peereboom u. H.W. Beekes, J. Chromatog.
(Amsterdam) 20, 43 (1965)
39. Y.C. Tung u. K.T. Wang, Nature (London) 208, 581 (1965)
40. B. Zwata u. W. Hölzel, Pharmazie 23, 174 (1968)
41. Technische Information, Ultramid BASF (1968)
42. G. Hesse, Z. Anal. Chem. 211, 5 (1965)
43. W. Grassmann, H. Hörmann u. H. von Portatius,
Hoppe- Seyler's Z. physiol. Chem. 321, 120 (1960)
44. H. Wiedemann, Diplomarbeit Universität Erlangen (1971)
45. J.J. Kirkland, J. Chromatog. Sci. 10, 129 (1972)
46. W. Strubert, Chromatographia 6, 50 (1973)
47. D. Randau, W. Schnell, J. Chromatog. 57, 373 (1971)
48. J.J. Kirkland, J. Chromatog. Sci. 9, 206 (1971)
49. U. Knecht, Diplomarbeit Universität Erlangen (1971)

LEBENS LAUF

Udo Knecht,

geboren am 18.8.1942 in Hallenberg, Nordrhein-Westfalen.

Schulbildung:

1949-1953	Volksschule Schwerte
1953-1963	Friedrich-Bährens-Gymnasium Schwerte

Bundeswehr:

April 1963 bis April 1965	Wuppertal, Lüdenscheid und Sonthofen
------------------------------	--------------------------------------

Studium:

1965	Beginn des Chemiestudiums an der Universität Erlangen
1968	Diplomchemiker-Vorexamen
1971	Diplomchemiker-Hauptexamen

Im Anschluß daran von März 1971 bis Dezember
1971 praktische Ausführung der Diplomarbeit
unter Leitung von Prof. Dr. G. H e s s e
am Institut für Organische Chemie der Friedrich-
Alexander-Universität Erlangen.

Copie - Center 2000
852 ERLANGEN • Obere Karlstr. 30